

# ACTA

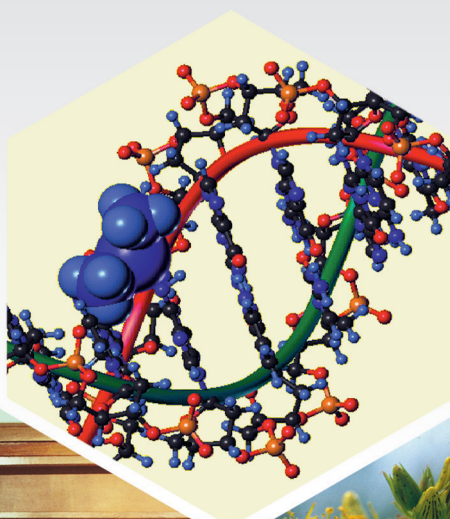
## PHARMACEUTICA HUNGARICA

# 3.

## 2009

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata

APHGAO 79, (03) 93-140. (2009)





# ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság folyóirata

*Főszerkesztő:*

Noszál Béla, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet  
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 9.  
Tel.: 217-0891;  
E-mail: nosbel@hogyes.sote.hu

*Felelős szerkesztő:*

Zelkó Romána, Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár,  
Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,  
1092 Budapest, Hőgyes E. u. 7-9.  
Tel.: 217-0927;  
E-mail: zelrom@hogyes.sote.hu

*A szerkesztőbizottság tagjai:*

Báthori Mária, Erős István, Gunda Tamás, Perjesi Pál,  
Tóthfalusi László

*A szerkesztőség címe – Correspondence:*

Acta Pharmaceutica Hungarica  
1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 9.

*A főszerkesztő munkatársa:*

Hankó Zoltán MGYT,  
1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16.  
Tel.: 235-0999; fax: 235-0998

---

## TARTALOM

<i>Antus Sándor:</i> Biológiaiailag aktív vegyületek kutatása a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén 1992 – 2009 között I. rész .....	95
<i>Vajna Balázs, Nagy Zsombor, Patyi Gergő, Zsigmond Zsolt, Antal István, Marosi György:</i> A kémiai térképezés alkalmazási lehetőségei a gyógyszer-technológiában .....	104
<i>Csík Gábor, Patzai Balázs, Falkay György, Zupkó István:</i> Patkány myometrium termoanalitikai vizsgálata terhesség alatt .....	117
<i>Patyi Gergő, Marosi Györgyi, Antal István, Bódis Attila:</i> Hatóanyagok oldódásának elősegítése extrúziós technológiával .....	124
A Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV. tudományos és szakmai programja .....	134

## CONTENTS

<i>Antus, S.:</i> Investigation of biologically active compounds at the Department of Organic Chemistry of University of Debrecen between 1992-2009 I. ....	95
<i>Vajna, B., Nagy, Zs. Patyi, G., Zsigmond, Zs., Antal, I., Marosi, Gy.:</i> Application possibilities of chemical imaging in pharmaceutical technology .....	104
<i>Csík, G., Patzai, B., Falkay, Gy., Zupkó, I.:</i> Thermoanalytical investigation of rat myometrium during gestation .....	117
<i>Patyi, G., Marosi, Gy., Antal, I., Bódis, A.:</i> Solubility enhancement with extrusion technology .....	124
Programme of Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XIV .....	134

Acta Pharmaceutica Hungarica: [www.mgyt.hu](http://www.mgyt.hu)

„Acta Pharmaceutica Hungarica” a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata  
Kiadja a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16. Telefon: 235-09-99; E-mail: [szerkesztoseg@mgyt.hu](mailto:szerkesztoseg@mgyt.hu)

**Felelős kiadó: Prof. Dr. Klebovich Imre**

Előfizethető: Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16., belföldi postautalványon vagy átutalással  
az MGYT átutalási számlájára: OTP VIII. kerületi fiók, Budapest, József krt. 33.

MGYT elszámolási számla sz. 11708001-20530530

Adószám: 19000754-2-42

Előfizetési díj egész évre: 5133 Ft + 257 Ft áfa

Megjelenik negyedévenként. Példányszám: 1000 db

Tördelőszerkesztő: *Oláh Csaba*

Sokszorosítás: Arrabonaprint & Partners Zrt. (Felelős vezető: Ványik László)

**Index: 25 101**

## Biológiailag aktív vegyületek kutatása a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén 1992 – 2009 között I. rész<sup>1</sup>

ANTUS SÁNDOR

Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék, 4010 Debrecen, Pf. 20  
és MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoport, 4010 Debrecen, Pf. 59

E közleménnyel Lempert Károly akadémikust 85. születésnapján köszönti a szerző

### Summary

Antus, S.: *Investigation of biologically active compounds at the Department of Organic Chemistry of University of Debrecen between 1992-2009 I.*

The author briefly reviews the history of the Department of Organic Chemistry of University of Debrecen and summarizes the most important synthetic and pharmacological results achieved in the field of poppy alkaloids in the institute between 1992-2008, part I.

### Összefoglalás

A szerző röviden ismerteti a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékének történetét és összefoglalja a mákalkaloidok kémiaja területén 1992-2008 között elért legfontosabb szintetikus és farmakológiai eredményeket, I. rész.

### 1. Bevezetés

A Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék (korábban Szerves Kémiai Intézet; továbbiakban tanszék) megalapítása (1947) óta intenzív kutatómunka folyik a biológiailag aktív természetes anyagok kémiaja területén. E kutatások a biológiai energiatermelés folyamataiban, elsősorban a glikolízisben kulcsszerepet játszó cukorfoszfátok szintézise kapcsán Tankó Béla professzor (1905-1974) irányításával kezdődtek meg.

1950-ben Bognár Rezsőt (1913-1990) a Magyar Tudományos Akadémia (MTA) levelező tagját bízták meg a tanszék vezetésével. Bognár akadémikus a Budapesti Műszaki Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén a világszerte ismert Zemplén Géza akadémikus (1883-1956) munkatársa volt és Debrecenbe kerülve az „alma mater”-ben megkezdett tudományos kutatómunkáját a szénhidrát- és flavonoidkémia területén nemcsak folytatta, hanem ezt a régió két nagy gyógyszergyárának, a Tiszavasvári Alkaloida Vegyészeti Gyárnak és a Debreceni Biogalnak (jelenleg TEVA) a fő profiljához illeszkedve az alkaloidok és az antibiotikumok területére is kiterjesztette. 1953-ban e területen végzett nemzetközileg is elismert munkájának elismeréseként az MTA rendes tagjának választot-

ták, majd 1961-ben az MTA az antibiotikum kutatásainak a támogatására tanszéki kutatócsoportot is létrehozott, melyet 1987-ig rendkívüli tudományos igényességgel irányított. Ezt követően e kutatásokat 2005-ig Sztaricskai Ferenc professzor (1934-) vezette, majd azóta Herczegh Pál egyetemi tanár (1947-) vezetésével folyik a nemzetközileg is elismert kutatómunka.

Megemlítenéd, hogy a kutatócsoport 2003-ban a Debreceni Egyetem (DE) Gyógyszerésztudományi Karán létesült Gyógyszerészeti Kémiai Tanszék-re került át, valamint a nemzetközileg ismert szénhidrátkémiai kutatások a magyar tudományegyetemek természettudományi karai között elsőként 1970-ben alapított Biokémiai Tanszéken Nánási Pál professzor (1923-) vezetésével is szélesedtek, majd 1988-1998 között Lipták András akadémikus (1935-) tanszékvezetése mellett folytatódtak. 1996-ban az MTA a Szénhidrátkémiai Kutatócsoport létesítésével is támogatta Lipták akadémikus kutatásait.

1979-ben a Szerves Kémiai Tanszék vezetését Bognár akadémikus az alkaloidkémia területén dolgozó legtapasztaltabb munkatársának Makleit Sándor professzornak (1930-) adta át, melyet eredményes alkaloidkémiai kutatásai mellett a tanszék tudományos profilját megőrizve sikeresen látott el.

Az 1960-as évek végén a műszeres szerkezetfelderítő módszerek (UV, IR, NMR, MS, ORD) közül az egyik leghatékonyabb eszközzé a mágneses rezonancia spektroszkópia (NMR) vált.

<sup>1</sup>A dolgozat II. része a flavonoidkémiai, a III. a szénhidrátkémiai, IV. pedig a szerkezetvizsgáló módszerek alkalmazásával elért kutatási eredményeket ismerteti.



Bognár akadémikus felismerve e módszer szerves kémiai alkalmazásának óriási jelentőségét, a szénhidrátkémia területén eredményesen dolgozó fiatal munkatársát, *Szilágyi Lászlót* (1941-) a Nobel-díjas *Jean-Marie Lehn* (1939-) laboratóriumába (Strasbourg) küldte, hogy sajátítsa el e módszer alapjait. Bognár akadémikus eredményes tudománypolitikai munkájának köszönhetően 1971-ben hazánk első 100 MHz-es NMR készüléke (Jeol MH-100) így a tanszékére került, majd 1980-ban, elsőként itt helyezték üzembe szupravezető mágnessel működő készülékeket [Bruker WP 200 SY (200 MHz)], 1995-től pedig már 500 MHz-es Bruker Avance DRX 500-as készülék is segíti a szerves kémiai kutatásokat. *Szilágyi László* nemzetközi elismerést is kiváltó tudományos iskolát alakított ki, melyet 1997-2006 között egyetemi tanárként irányított, majd ezt követően professzor emeritus-ként jelenleg is vezet.

1992-ben a tanszék vezetését *Antus Sándor* (1944-) flavonoidkémikus vette át, aki korábban a Budapesti Műszaki Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén dolgozott és az O-heterociklusokkal kapcsolatos kutatásait a Zemplén-tanítvány *Farkas Loránd* akadémikus (1914-1986) irányításával 1968-ban kezdte meg. Kinevezésével Debrecenben nemcsak a flavonoidkémiai kutatások kaptak újabb lendületet, hanem *Günther Snatzke* (1928-1992) és *Kajtár Márton* (1929-1991) professzorok munkásságának folytatójaként az optikailag aktív természetes anyagok szerkezetvizsgálatában nélkülözhetetlen kiroptikai spektroszkópia (CD) területén nemzetközi hírnevet is szerzett kutatások kezdődtek meg. 2002 óta *Lipták András* akadémikussal szorosan együttműködve szénhidrátkémiával is intenzívebben foglalkozik. 2005-ben *Lipták* akadémikus professzor emeritus-szá való kinevezését követően az MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoport vezetését nemcsak átvette, hanem a munkatársak tanszéki elhelyezését megoldva biztosította az oktatási munkában való intenzívebb részvételüket is. A szénhidrátkémiai kutatások így a tanszéken a legintenzívebben művelt kutatási területté váltak.

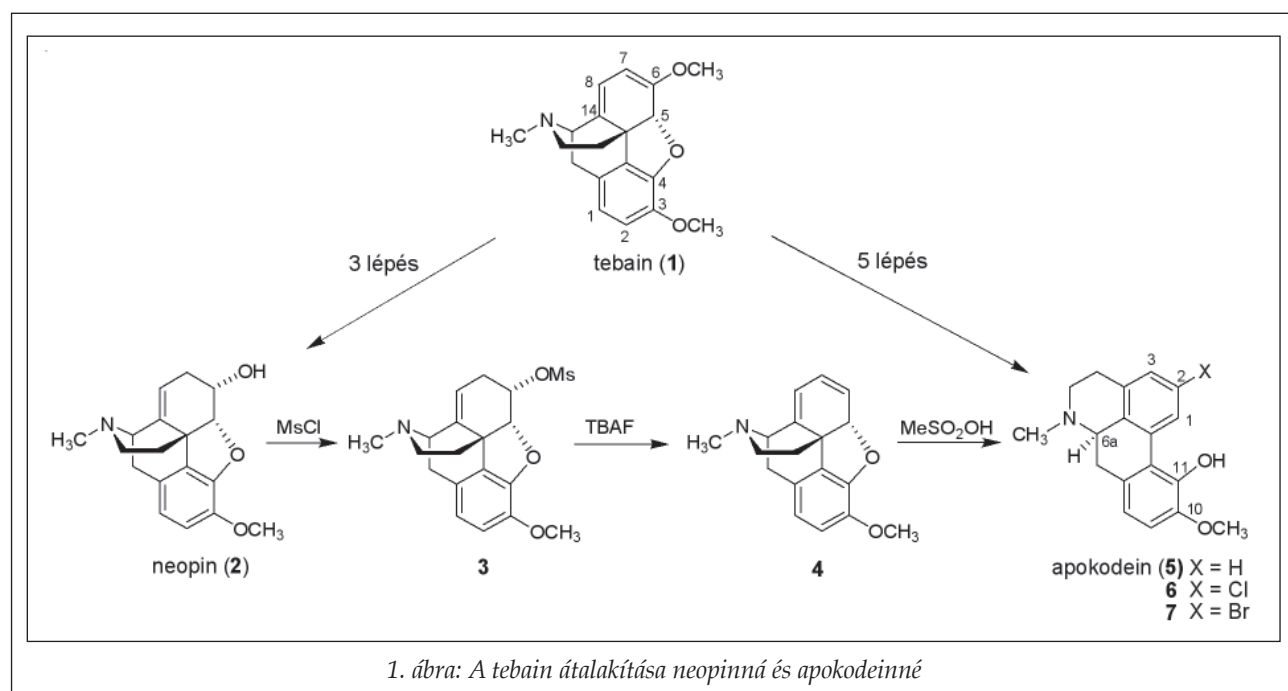
2008. szeptember 1. óta a tanszékvezetői feladatokat fiatalos lendülettel és nagy szakmai felkészültséggel Bognár akadémikus tanítványa, *Patonay Tamás* egyetemi tanár (1951-) látja el, aki kutató munkáját az O- és N-heterociklusok kémiája területén koncentrálja.

A tanszék nemzetközi kapcsolatai mindig igen kiterjedtek voltak. Ezek sikerességét egyértelműen a rangos nemzetközi folyóiratokban megjelent

közös közlemények nagy száma is igazolja, valamint az a tény, hogy a tanszék munkatársai kivétel nélkül rövidebb (néhány hét), vagy hosszabb (több hónap/év) tanulmányutakon voltak európai és tengerentúli intézetekben. Neves külföldi szakemberek – közöttük sok igen jelentős nemzetközi tekintély is, mint pl. 1986-ban *prof. dr. Sir Derek Barton*, 2003-ban pedig *prof. dr. Oláh György* Nobel-díjas kémikusok – látogatták meg a tanszéket. Az egyetem a tanszék és a Szénhidrátkémiai Kutatócsoport javaslatára mellettük *G. Snatzke* (1982-ben), *H. Wagner* (1989-ben), *J. F. G. Vliegenhart* (1992-ben), *F. W. Lichtenthaler* (1992-ben), *J. P. Kamerling* (1997-ben) és *K. Krohn* (2007-ben) professzorokat is a díszdoktorainak sorába fogadta. Kimagasló tudományos munkásságuk elismeréseként *F. W. Lichtenthaler*, *G. Oláh*, *G. Snatzke* és *H. Wagner* professzorokat az MTA tiszteletbeli tagjai közé is választotta. A külföldi kollegák valamenynyien erős szakmai és meleg baráti szálakkal kötődnek/kötődtek a tanszéki kollektívához. A tanszék tudományos közleményei nemcsak a neves külföldi, hanem a hazai akadémiai, egyetemi és gyógyszeripari kutató helyekkel folytatott eredményes együttműködésről is tanúskodnak.

1996-ban a tanszék oktatási feladatai is jelentősen bővültek. A hagyományos vegyészképzés mellett megkezdődött ugyanis az Egyetem Gyógyszerésztudományi Intézetével közösen végzett gyógyszerészképzés, melyben a tanszék és az MTA Antibiotikumkémiai Kutatócsoport feladata lett a Szerves kémia, a Gyógyszerészi kémia és a Szerves kémiai analitika című tárgyak oktatása. A Szerves kémia és a Szerves kémiai és gyógyszeripari technológia tárgyak oktatásával ebben az évben indult el a főiskolai szintű vegyész-mérnök-képzés is, amely az ún. bolognai rendszerre való áttérést követően 2005 óta BSc vegyész-mérnök-képzésként folyik. A DE TTK Kémiai Intézete *Antus Sándor* akadémikus szakfelelőssége mellett a Magyar Akkreditációs Bizottságnál (MAB) ez évben kezdeményezte az MSc szintű vegyész-mérnök képzés elindítását. 1997-óta a tanszék felelős az orvos-diagnosztikai laboratóriumi analitikusok és a környezettan és környezettudomány szakos hallgatók szerves kémiai oktatásáért is.

E szerteágazó oktató munka mellett a már fentebb említett kutatási területeken 1992-2009 között is intenzív kutatómunka folyt. Ezt jelzi, hogy 646 tudományos közlemény, 1 tankönyv (Szerves Kémia I-III), számos jegyzet és oktatási segédanyag, valamint 31 egyetemi doktori, illetve Ph.D. értekezés, 6 akadémiai doktori disszertáció született a



tanszéken és a kutatócsoportban.

Ennek a nagy és szerteágazó tudományos munkának a teljesség igényével történő bemutatására terjedelmi okok miatt a címben megadott leszűkítés ellenére sem vállalkozhatok, ezért csak azt kísérem meg, hogy a már említett fő kutatási területenként röviden azokat az eredményeket ismertetem, melyek megítélésem szerint jelentősen hozzájárultak ahhoz, hogy az alapkutatások számára egyre elidegenedő környezetben is sikerült megőriznünk a tanszék elődök áldozatos munkájával megszerzett tudományos hírnevét.

## 2. Eredményeink az alkaloidkémia területén

A mákalkaloidok kutatása hosszú éveken át szoros együttműködésben a Tiszavasvári Alkaloida Vegyészeti Gyárral zajlott. A Kabay-féle morfin-gyártás technológiájának a módosítását, a morfin fontosabb társalkaloidjainak (kodein, tebain és a narkotin) kinyerését és a morfin és a kodein szulfonsavészterek nukleofil szubsztitúciós reakcióinak beható vizsgálatát sikerült megoldani, mely kiegészült a kiemelkedő opiát receptor aktivitással rendelkező „azidomorfinok” szintézisével [1].

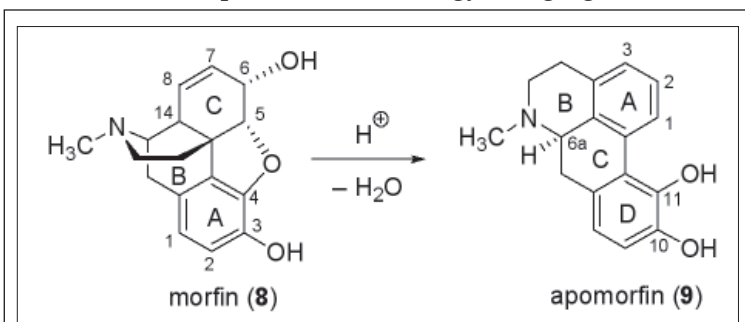
A 70-es évek végétől kezdve a figyelem egyre inkább a tebain (1) felé fordult, jól-lehet a vegyületnek hasznosítható biológiai hatása nincs, de szerkezeti adottságai

miatt változatos módon átalakítható és ezzel napjainkra a gyógyszeripar egyik fontos alapanyagává vált [2].

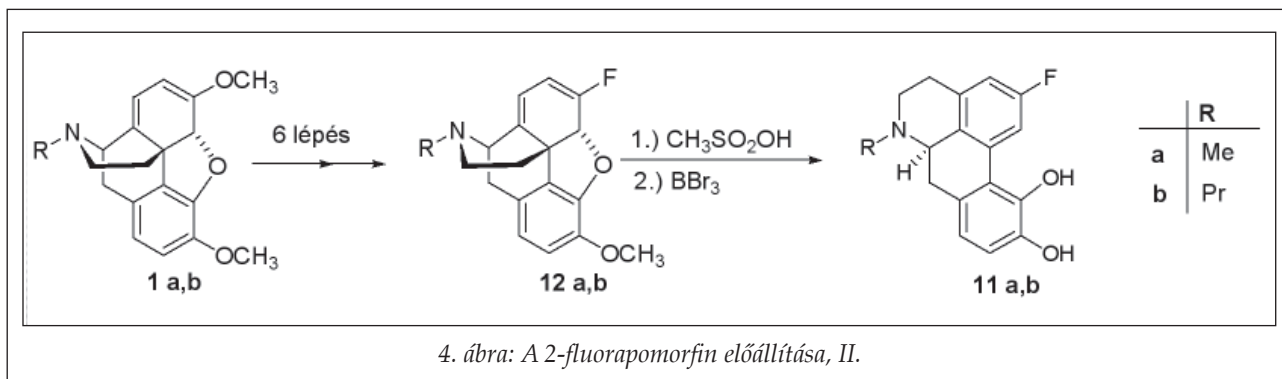
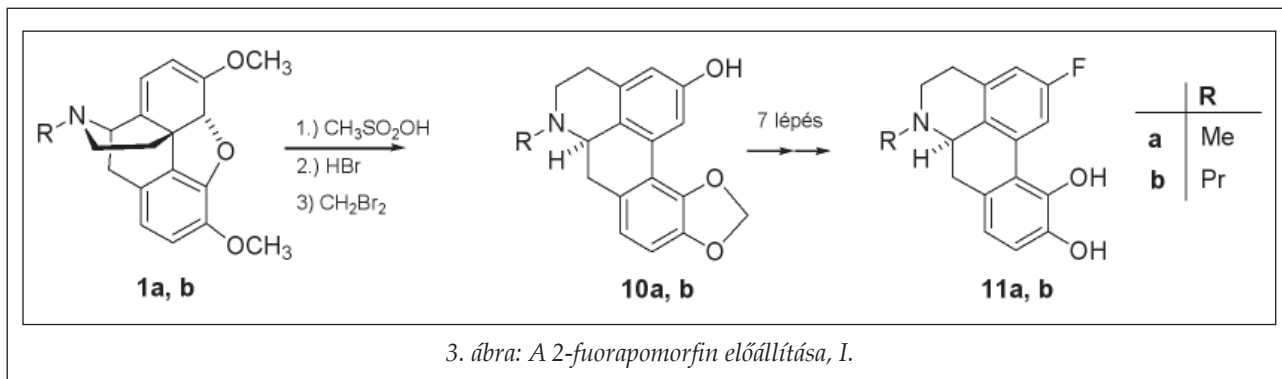
Így új úton jutottak tebainból (1) neopinhoz (2) [3], mezilátjából (3) pedig elsőként sikerült megvalósítani a 6-demetoxitebain (4) előállítását [4], melynek savkatalizált átrendeződési reakciója az apokodeint (5) szolgáltatta. A tebainból (1) a 6-halomorfinándiének keresztül a megfelelő 2-halogénszubsztituált apokodeinekhez (6 és 7) is könnyen el lehetett jutni (1. ábra). Ez a munka egyfelől kísérletileg alátámasztotta a morfin→apomorfin átrendeződés korábban feltételezett mechanizmusát [5], másrészt megalapozta a szubsztituált apomorfinszármazékok előállításának új és hatékony módszerét [6].

Az apomorfinnal kapcsolatos vizsgálatok a 80-as évektől kezdve már a tanszék alkaloidkémiai munkacsoportjának fő kutatási területévé váltak.

Az apomorfin (9) az egyik legrégebbi felszín-



2. ábra: A morfin átalakítása apomorfinná



tetikus gyógyszer, amit 140 évvel ezelőtt 1869-ben Mathiensen és Wright a morfin (8) tömény sósavas hevítésével [7] állította elő (2. ábra). Sósavas sójaként hazánkban két terápiás területen van gyógyszerkészítményként forgalomban: az Apo Go nevű készítményt bőr alá injekciózva Parkinson-kór kezelésére [8], az Uprima nevű nyelv alatt oldódó tablettát pedig az impotencia (erektilis diszfunkció) gyógyszeres terápiájában használják [9].

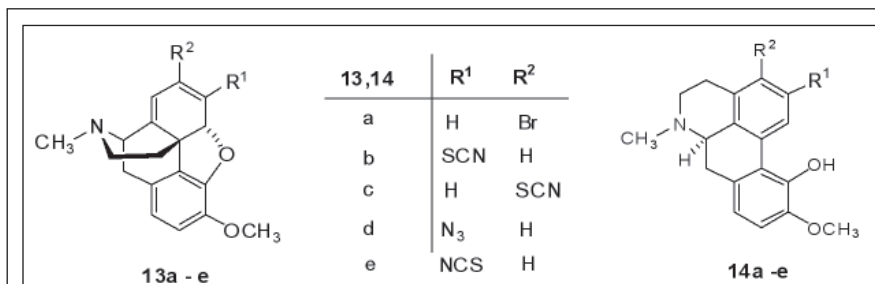
Az utóbbi években vált ismertté, hogy a Parkinson-kór kialakulásában fontos szerepet játszik az oxidatív stressz is [10] és ez az apomorfin (9) antioxidáns, neuroprotektív tulajdonságára irányította a kutatók figyelmét.

Az apomorfinnal kapcsolatos kutatások legújabb eredményeiről a közelmúltban számos összefoglaló cikk jelent meg [11].

Az apomorfin gyenge orális biohasznosulása és a dopamin receptor altípusokkal szemben mutatott csekély szelektivitása arra ösztönözte a kutatókat, hogy hatékonyabb és szelektívebben kötődő származékokat állítsanak elő. A szerkezet-hatás összefüggések [structure-activity relationship (SAR)] adataiból megállapították, hogy elsősorban az apomorfin kiralitáscentrumsa (C-6a), valamint a nitrogénatom és az A-gyűrű 2-es és 3-as, valamint a D-gyűrű 10-es szénatomjainak szubsztituáltsága játszik döntő szerepet a hatékonyságban és a szelektivitásban.

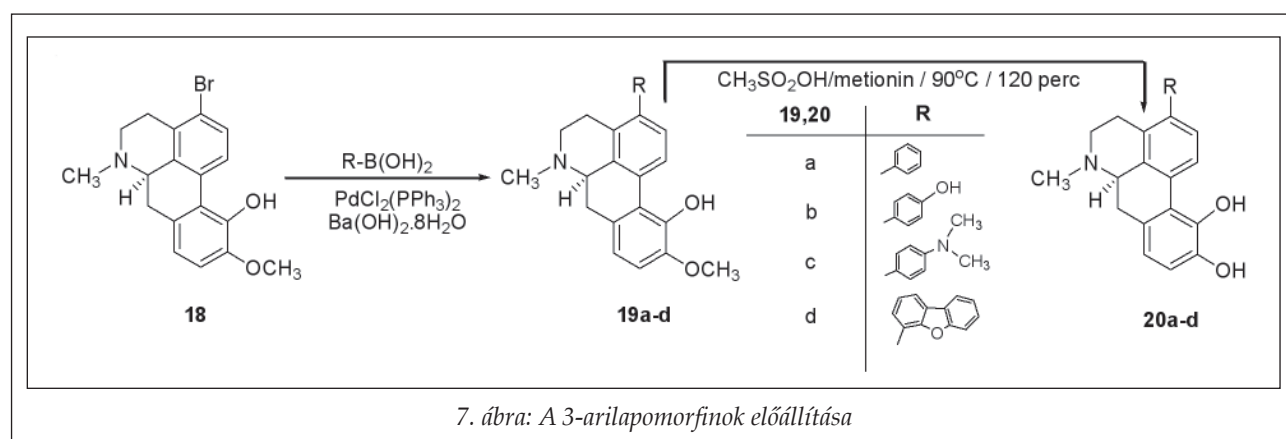
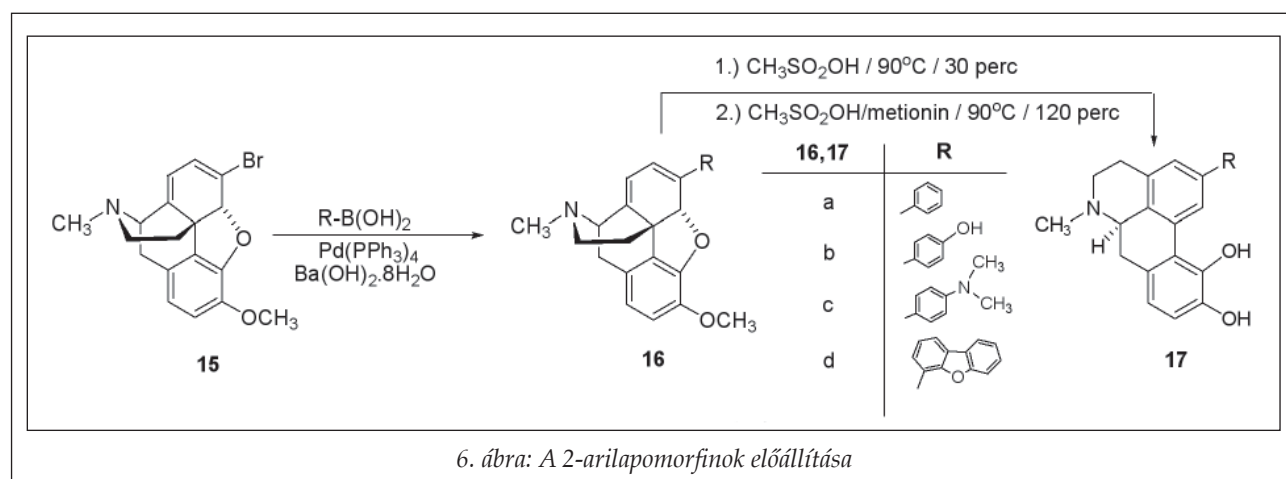
A szelektív dopamin D<sub>2</sub> agonista tulajdonságú 2-fluorapomorfinok (11a, b) szintézisét tebainból (1), vagy N-propil-nortebainból (1b), kiindulva Neumeyer és mtsai a 10a, b 2-hidxiapomorfin származékon keresztül 10 lépésben oldották meg [12]. Az átalakítás tebainra számolt termelése 2-3% és a N-propil származék (11b) a hatékonyabb vegyület (3. ábra).

A debreceni csoport új szintézis stratégiát kidolgozva tebainból (1) könnyen hozzáférhetővé e vegyületeket. Először a megfelelően szubsztituált diént (12a, b) állított



5. ábra: Szubsztituált apokodeinek előállítása





ták elő tebainból (1) vagy *N*-propil-nortebainból (1b), majd az aporfinváz kialakítása után és az O-demetilezéssel 25%-os hozammal nyerték a kívánt apomorfinokat (11a, b) [13] (4. ábra).

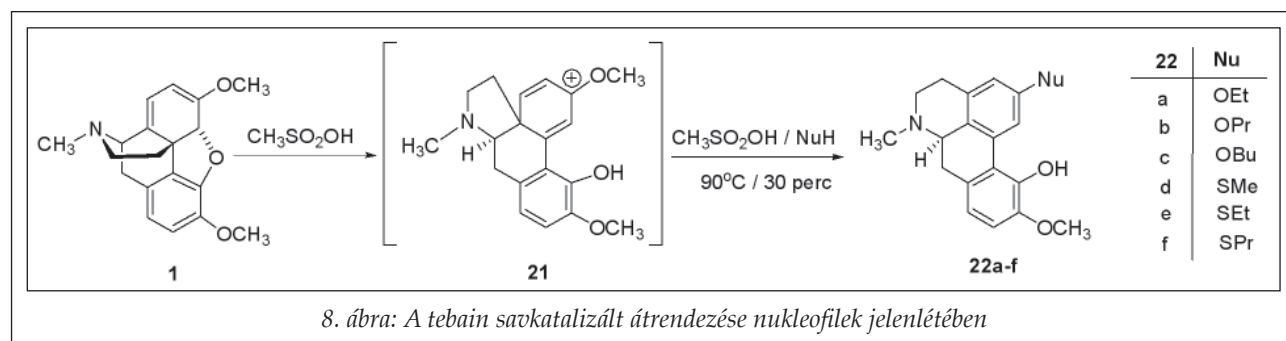
E módszer a megfelelő morfináندیénekből (13a-e) kiindulva tette lehetővé az A-gyűrű 2-es vagy 3-as helyzetű szénatomjain módosított apokodein származékok (14a-e) előállítását is [14] (5. ábra).

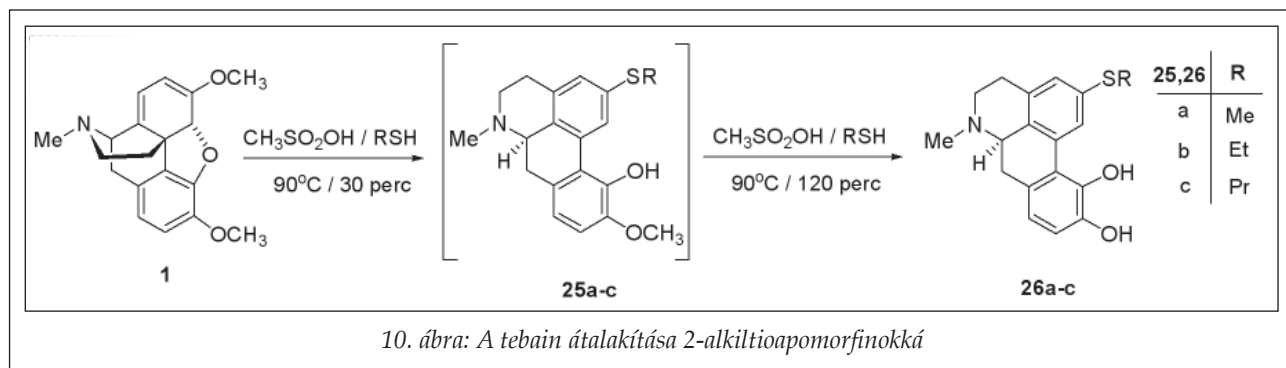
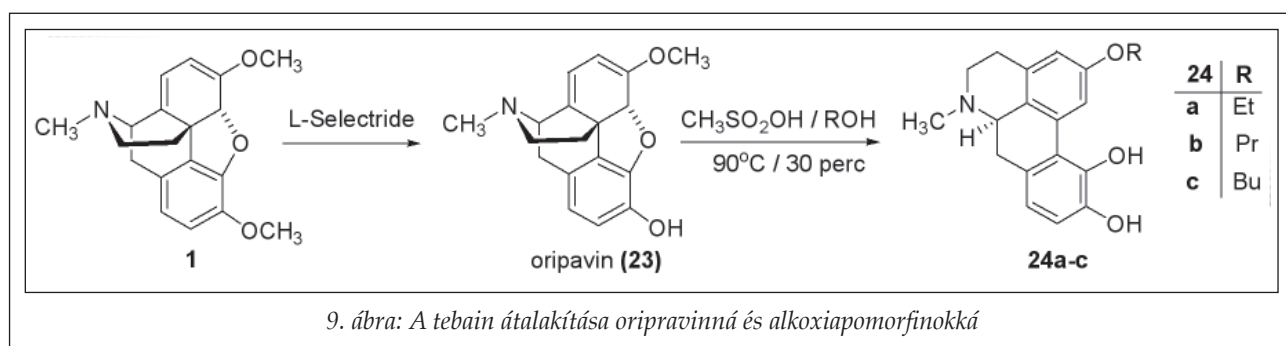
A 6-brómmorfináندیénekből (15) Suzuki-Miyaura kapcsolást követő savkatalizált átrendezés utáni demetilezés jó hozammal (~35-42%) 2-arilapomorfinokhoz (17a-d) vezetett (6. ábra), melyek kö-

zül a 2-(4-hidroxifenil)-apomorfin (17b) különösen hatékonynak bizonyult [15].

Sikerült ezt az eljárást 3-arilapomorfinok (20a-d) szintézisére is kiterjeszteni. A 3-brómapokodeinből (18) ugyanis a kapcsolási reakciót (18→19a-d) követő O-demetilezéssel a kívánt apomorfin-származékok (20a-d) keletkeztek [16].

Külön is említésre érdemes, hogy a dopamin receptor  $D_2$  és  $D_3$  altípusára fókuszáló *in vitro* és *in vivo* farmakológiai vizsgálatok (Richter Gedeon Rt. Neurofarmakológiai Labor) a 17b apomorfin-származék kimagasló  $D_2$  aktivitásáról ( $K_i=4,14$





nM) tanúskodtak, ugyanakkor számottevő  $D_2/D_3$  szelektivitást csak a **17d** származék esetében ( $D_2$ :  $K_i=1627$  nM;  $D_3$ :  $K_i=22,3$  nM) figyeltek meg [15b].

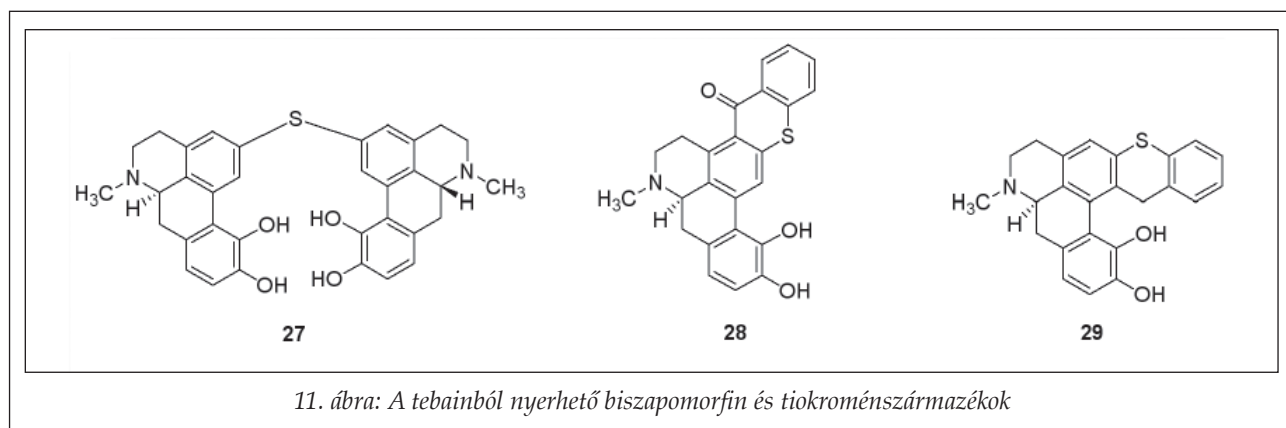
A tebain (**1**) savkatalizált átrendeződési reakcióinak részletes vizsgálat a is érdekes megfigyelésekhez vezetett. Azt tapasztalták ugyanis, hogy alkoholok és tiolok jelenlétében a tebain metánszulfonsavas vázátrendeződése során – feltehetően a **21** rezonanciastabilizást karbokationon keresztül – 2-alkoxiapokodeinek (**22a-c**), illetve 2-alkiltioapokodeinek (**22d-f**) képződtek [17] (8. ábra).

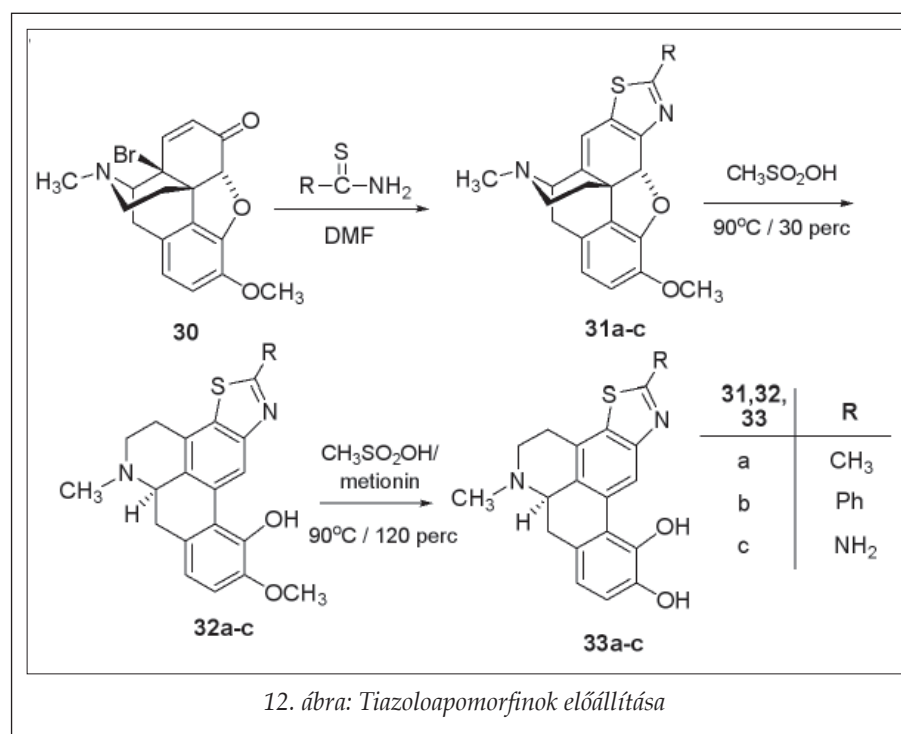
Mivel az alkoxiapokodeinek (**22a-c**) szelektív O-demetilézése nehézségekbe ütközött, így az apomorphin-származékok (**24a-c**) előállítását végül

a tebain (**1**) szelektív O-demetilézésével kapott oripavinból (**23**) oldották meg [18] (9. ábra).

Az így nyert O-alkilapomorphin-származékok (**24a-c**) jelentős  $D_2$  szelektivitást mutattak *in vitro* [ $K_i$  (nM)  $D_1/D_2$  **24a**:  $2900\pm900/44\pm3$ ; **24b**:  $3500\pm900/75\pm4$ ; **24c**:  $2100\pm900/60\pm4$ ], és az aktivitási értékek alapján a 2-etoxi-szubsztituens térkitöltése látszik optimálisnak [18b].

Érdekes módon a tebain (**1**) átrendeződése tioalkoholok jelenlétében nem állt meg a megfelelő apokodein származéknál (**25a-c**), hanem a feleslegben lévő tiol, mint erős metil-akceptor hatására már a metánszulfonsav is hasította a fenolétert. Így módon egy lombik módszerrel sikerült alkiltioapomorphin-származékokhoz (**26a-c**) jutni [19] (10. ábra).





rendezését (**31a-c**→**32a-c**) követő *O*-demetilézése tiazoloapomorfinokhoz (**33a-c**) vezetett [21] (12. ábra). A savkatalizált átrendezési reakcióban kapott apomorfin-származékok (**33a-c**) említésre érdemes dopaminerg aktivitást azonban nem mutattak [22] (12. ábra).

A morfinból (**8**) könnyen hozzáférhető (**8**→**34**→**35**) 9-aminoapomorfin (**35**) az aromás aminok Kaufman-féle ciklizációjával mikrohullámú aktiválás körülményei között jó termeléssel (72%) új aminotiazol gyűrűvel anellált apomorfinná (**36**) lehetett átalakítani [23] (13. ábra).

A fentebb bemutatott, hatékony és szelektív  $D_2$  agonista 2-*O*-és 2-*S*-szubsztituált

E vegyületek közül a **26a** származék  $D_2$  aktivitása [ $K_i$  (nM)=54,7±2,3] az *N*-metil csoportját propilra cserélve [ $K_i$  (nM)=3,73±0,44] jelentősen fokozódott [19b].

Ezt a szintézis-módszert alkalmazva tebainból (**1**) kénhidrogén jelenlétében diaril-szulfid típusú biszapomorfin **27**, tioszalicilsav jelenlétében, pedig tiokromén gyűrűvel anellált apomorfinok (**28**, **29**) keletkeztek [20] (11. ábra).

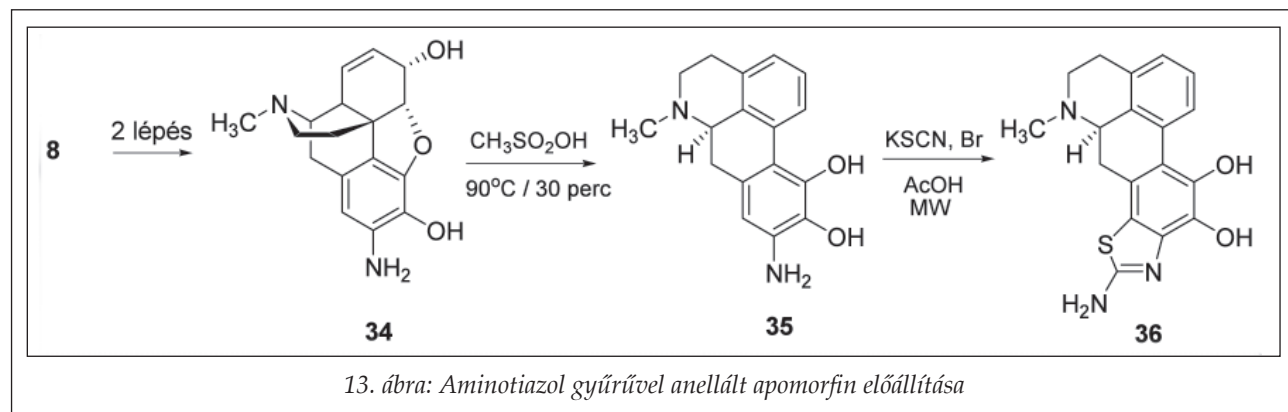
Az utóbbi években előnyös farmakológiai hatásuk miatt a tiazol- és oxazolgyűrűvel anellált  $D_2$  agonista vegyületek (pl. pramiprexol, taliprexol) a figyelem középpontjába kerültek.

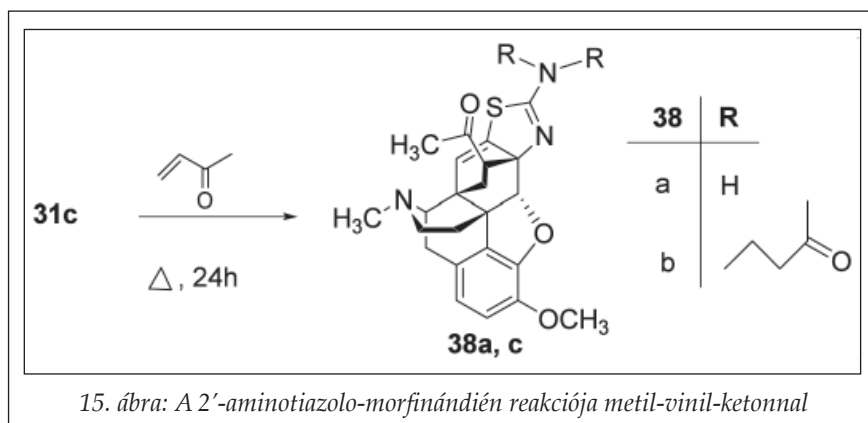
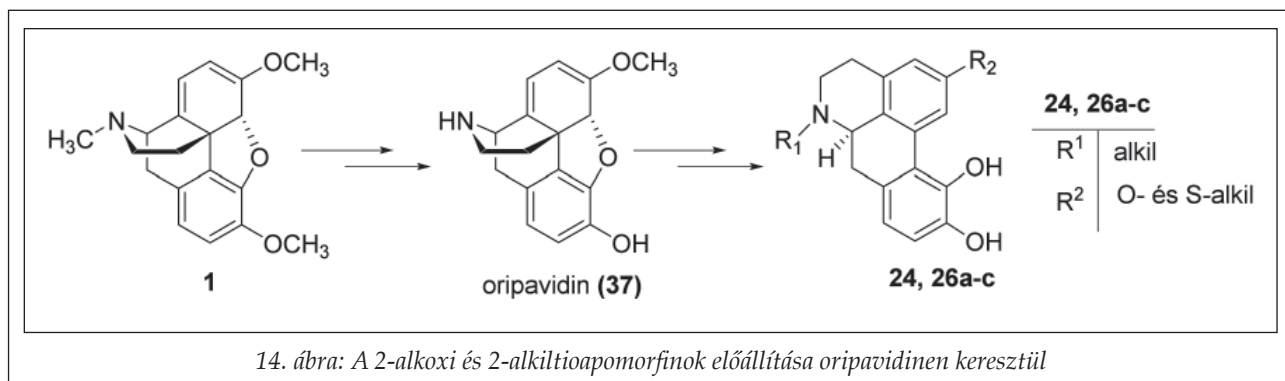
Tanszékünkön a 14β-brómkodeinon (**30**) tiosavamidokkal végrehajtott ciklokondenzációs reakciójával jutottak először heterogyűrűvel anellált morfinándiénekhez (**31a-c**), melyek savkatalizált át-

apomorfinokhoz (**24**, **26a-c**) a természetes forrásból már ismert oripavidin (**37**) első szintézisében keresztül, az előzőeknél rövidebb és hatékonyabb új úton is eljutottak [24] (14. ábra).

A 2'-aminotiazolo-morfinándién (**31c**) domináns diénkarakterét kihasználva metil-vinilketonnal végzett Diels-Alder reakcióban β-oldali támadással nemcsak a 6,14-endoetenomorfinán váz (**38a**) épült ki, hanem a 2'-aminocsoport két ekvivalens metil-vinilketonnal is reagált (**38a**→**38b**) [25] (15. ábra).

Az apomorfin származékok szintézise és biológiai hatásának vizsgálata során elért eddigi eredmények – úgy gondolom – minden kétséget kizáróan nemcsak igazolják, hogy érdemes volt a kutatásokat e területen koncentrálni, hanem indokolják, hogy a munkánkat folytatni kell.





tanszék tudományos hírnevét öregbítették. Külön is szeretném megköszönni dr. Makleit Sándor professzor emeritus-nak, dr. Berényi Sándor egyetemi docensnek és Gyulai Zsuzsanna vegyészteknikusnak hogy az elmúlt 17 évben nemcsak tudásuk legjavát adva dolgoztak e területen, hanem azt számos hallgatónak megosztva jelentősen hozzájárultak ahhoz, hogy a tanszéken sokszínű eredményes

Mínthogy tudományosan is igazolt, hogy a Parkinson-kór kialakulásában az oxidatív stressznek is meghatározó szerepe van, így az apomorfin (9) antioxidáns potenciáljának növelése a farmakológiai hatását is kedvezően módosíthatja. A 3-(4-hidroxifenil)-apomorfin (17b) kimagasló dopamin receptor  $D_2$  altípusára mutatott aktivitása ( $K_i = 4,14$  nM) pedig arról tanúskodik, hogy az apomorfin (9) „polifenol” karakterét érdemes fokozni. E mellett a tanszéken folyó kiroptikai (CD) kutatások (e közlemény IV. részében kerülnek ismertetésre) szélesítésére is jó lehetőséget kínál ez a terület. A nagyszámú A- vagy D-gyűrűjén akirális szubsztituenssel módosított rögzített konformációjú bifenilkromofort tartalmazó homokirális apomorfin származék áll már rendelkezésünkre, melyek kiroptikai adatainak tudományos igényű elvégzett kritikai értékelése e kromoforrendszerrel kapcsolatban is új törvényszerűségek megállapítását alapozhatja meg.

### 3. Köszönetnyilvánítás

E helyütt is köszönetemet fejezem ki a tanszék alkaloidkémiai munkáját bemutató közlemények szerzőinek azért is, hogy értékes munkájukkal a

oktató munka folyjon. Megköszönöm továbbá Szabó Edit tanszéki adminisztrátornak sokirányú és lelkiismeretes munkáját, mellyel oktató-kutató munkánkat nap mint nap hatékonyan segítette. Köszönöm dr. Sipos Attila tudományos munkatársnak az OTKA iskola pályázat keretében végzett eredményes munkáját és a kézirat elkészítéséhez nyújtott segítségét.

E kutatásokat az OTKA támogatta [I/3-1722 (1991 – 1994), T013991 (1994 – 1997), T017159 (1995 – 1998), T029941 (1999 – 2002), T049436 (2005-2009), NI61336 (2006-2010)], melyért e helyütt is őszinte köszönetünket fejezzük ki.

### IRODALOM

1. a.) Makleit, S.: Darstellung von Tosyloxy-, bzw. Mesyloxy-derivativen in der Morphin-reihe und deren Umwandlungsreaktionen. Acta Univ. Debr. 265-288; (1972-1973), b.) Makleit, S., Berényi, S., Hosztafi, S., Simon, Cs.: Halogéntartalmú morfin-származékok előállítása és néhány átalakítási reakciójuk. Magy. Kém. Lapja 52, 282-289. (1997).
2. a.) Berényi, S.: A debreceni tebaikémia (múlt-jelen-jövő). Magy. Kém. Lapja. 64, 128-129 (2009), b.) Berényi, S.; Csutorás, Cs.; Sipos, A.: Recent developments in the chemistry of thebaine and its transformation products as pharmacological targets. Curr. Med. Chem. 16, 3215-3242 (2009).



3. Makleit, S., Berényi, S., Bognár, R.: A new and efficient method for the preparation of neopine. *Acta Chim. (Budapest)* 94, 165-168 (1977).
4. Berényi, S., Makleit, S., Bognár, R., Tégdes, A.: Conversions of tosyl and mesyl derivatives of the morphine group, XXII. Some nucleophilic substitution reactions of 6-O-mesylneopine. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 103, 365-369 (1980).
5. Berényi, S., Hosztafi, S., Makleit, S., Molnár, I.: Preparation of demetoxoripavine and its conversion into N-substituted N-demethylapomorphine derivatives. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 113, 51-60 (1983).
6. Berényi, S., Makleit, S., Rantal, F.: Synthesis of new N-substituted N-demethyl-apomorphine derivatives. *Acta Chim. Hung.* 120, 201-205 (1985).
7. Mathiessen, A., Wright, C.R.A.: Research into the chemical constitution of narcotine and of its products of decomposition. *Proc. R. Soc. Ser. B.* 17, 455-462 (1869).
8. Ernst, A.M.: Relation between the action of dopamine and apomorphine and their O-methylated derivatives upon the CNS. *Psychopharmacologia* 7, 391-399 (1965).
9. Altwein, J.E., Keuler, F.U.: Oral treatment of erectile dysfunction with apomorphine SL. *Urol. Int.* 67, 257-263 (2001).
10. Fahn, S., Cohen, G.: The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. *Ann. Neurol.* 32, 804-812 (1992).
11. a.) Sit, S.Y.: Dopamine agonists in the treatment of Parkinson's disease-past, present and future. *Curr. Pharm. Design* 6, 1211-1248 (2000), b.) Foley, P.B.: Beans, roots, and leaves: A history of the chemical therapy of Parkinsonism. Tectum Verlag DE, (2003), c.) Zhang, A., Zhang, Y., Brannan, A.R., Baldessarini, R.J., Neumeyer, J.L.: Advances in development of dopaminergic aporphinoids. *J. Med. Chem.* 50, 171-181 (2007), d.) Takács, M., Takácsné Novák, K.: A Parkinson-kor gyógyszeres-kezelésének kémiaja. *Gyógyszerészet* 50, 147-154 (2006).
12. Neumeyer, J.L., Gao, Y., Kula, N.S., Baldessarini, R.J.: Synthesis and dopamine receptor affinity of (R)-(-)-2-fluoro-N-propylnorapomorphine: A highly potent and selective dopamine D<sub>2</sub> agonist. *J. Med. Chem.* 33, 3122-3124 (1990).
13. a.) Berényi, S., Hosztafi, S., Makleit, S.: A new efficient method for the preparation of 2-fluoro-N-propylnorapomorphine. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 2693-2694 (1992), b.) Simon, Cs., Hosztafi, S., Makleit, S., Berényi, S.: Synthesis of C-3 halogen substituted apocodeines and apomorphines. *Synth. Commun.* 21, 2309-2316 (1991).
14. a.) Berényi, S., Seps, Á., Gyulai, Zs., Szilágyi, L.: Synthesis of sulfur-containing morphine derivatives. *Synth. Commun.* 25, 3307-3314 (1995), b.) Csutorás, Cs., Berényi, S., Czákó, B., Makleit, S.: Synthesis and transformations of novel nitrogen and sulfur containing morphinan derivatives. *Monatsh. Chem.* 128, 1267-1273 (1997).
15. a.) Berényi, S., Sipos, A., Szabó, I., Kálai, T.: A novel route to 2-aryl apomorphines. *Synth. Commun.* 37, 467-471 (2007), b.) Sipos, A., Kiss, B., Schmidt, É., Greiner, I., Berényi, S.: Synthesis and neuropharmacological evaluation of 2-aryl- and alkyl apomorphines. *Bioorg. Med. Chem.* 16, 3773-3779. (2008).
16. Sipos, A., Debreceni, Sz., Szabó, R., Gyulai, Zs., Berényi, S.: Synthesis of 3-alkyl and aryl apomorphines. *Synth. Commun.* 37, 2549-2558 (2007).
17. a.) Berényi, S., Cziráki, M., Makleit, S.: Rearrangement of morphinandienes in methane-sulfonic acid. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 2137-2139 (1993), b.) Berényi, S., Csutorás, Cs., Gyulai, S., Makleit, S.: A simple, one-pot procedure for the preparation of dopaminergic alkylthioapomorphines. *Org. Prep. Proced. Int.* 30, 100-103 (1998).
18. a.) Berényi, S., Csutorás, Cs., Sipos, A., Gyulai, Zs.: New and efficient synthesis of 2-alkoxyapomorphines. *Lett. Org. Chem.* 4, 32-34. (2007), b.) Sipos, A., Csutorás, Cs., Berényi, S., Unstare, A., Rinken, A.: Synthesis and neuropharmacological characterization of 2-O-substituted apomorphines. *Bioorg. Med. Chem.* 16, 4563-4568. (2008).
19. a.) Berényi, S., Csutorás, Cs., Makleit, S., Auth, F., Laszlovszky, I., Kiss, B., Kárpáti, E., Löw, M.: Synthesis and neuropharmacological evaluation of new (R)-(-) and (S)-(+)-2-(alkylthio)aporphine derivatives. *Med. Chem. Res.* 7, 509-518 (1997), b.) Tóth, M., Berényi, S., Csutorás, Cs., Kula, N.S., Zhang, K., Baldessarini, R.J., Neumeyer, J.L.: Synthesis and dopamine receptor binding of sulfur-containing aporphines. *Bioorg. Med. Chem.* 14, 1918-1923 (2006).
20. a.) Tóth, M., Csutorás, Cs., Gyulai, Zs., Berényi, S.: Synthesis of sulfide- and disulfide-type bisaporphines from thebaine. *ARKIVOC* 7, 60-67 (2004), b.) Berényi, S., Tóth, M., Gyulai, S., Szilágyi, L.: Formation of a new polycyclic heterocyclic system by the acid-catalyzed rearrangement of thebaine in the presence of thiosalicylic acid. *Heterocycles* 57, 135-142 (2002), c.) Sipos, A., Tóth, M., Mueller, F. K., Lehmann, J. and Berényi, S.: Synthesis and dopamine receptor binding affinity of 4H-thiochromenoapomorphines. *Monatsh. Chem.* 140, 473-478 (2009).
21. a.) Tóth, M., Gyulai, Zs., Berényi, S., Sipos, A.: Synthesis and transformation of thiazolomorphinan derivatives. *Lett. Org. Chem.* 4, 539-543 (2007), b.) Sipos, A., Girán, L., Mittendorfer, H., Schmidhammer, H., Berényi, S.: Synthesis of 1,4-Thiazino- and Benzo-1,4-Thiazinomorphinans: their Acid-catalyzed Rearrangement and Study of the Formation of Unexpected Oxidation Products. *Tetrahedron* 64, 1023-1028 (2008), c.) Sipos, A. and Berényi, S.: Formation of novel 1,3-thiazole- and 1,2-thiazole-fused aporphines and study on the simultaneously occurring benzothiazole-benzisothiazole-type isomerization. *Monatsh. Chem.* 140, 387-396 (2009).
22. Sipos, A.; Mueller, F. K. U., Lehmann, J., Berényi, S., Antus, S.: Synthesis and pharmacological evaluation of thiazole and isothiazole derived apomorphines. *Arch. Pharma.* 342, 557-568 (2009).
23. Girán, L., Berényi, S., Sipos, A.: Formation of novel thiazolomorphinanes and thiazoloaporphines. *Tetrahedron* 64, 10388-10394 (2008).
24. Sipos, A.; Berényi, S.; Antus, S.: First synthesis and utilization of oripavidine - concise and efficient route to important morphinans and apomorphines. *Helv. Chim. Acta* 92, 1359-1365 (2009).
25. Sipos, A.; Skaliczki, T.; Berényi, S.; Antus, S.: Thiazole constrained analogues of the thevinones: synthesis and structure. *Mag. Reson. Chem.* 47, 801-807 (2009).

[Érkezett: 2009. július 29.]



## A kémiai térképezés alkalmazási lehetőségei a gyógyszer-technológiában

VAJNA BALÁZS<sup>1</sup>, NAGY ZSOMBOR<sup>1</sup>, PATYI GERGŐ<sup>1</sup>, ZSIGMOND ZSOLT<sup>2</sup>,  
ANTAL ISTVÁN<sup>3\*</sup>, MAROSI GYÖRGY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, Budafoki u. 8. – 1111

<sup>2</sup>EGIS Gyógyszergyár Nyrt., Budapest, Pf. 100 – 1495

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet, Budapest, Hőgyes E. u. 7. – 1092

\*Levelező szerző: e-mail: antist@gyok.sote.hu

### Summary

Vajna, B., Nagy, Zs., Patyi, G., Zsigmond, Zs., Antal, I., Marosi, Gy.: **Application possibilities of chemical imaging in pharmaceutical technology**

Chemical imaging is a novel analytical method that simultaneously delivers spatial, chemical, structural, and functional information on the dosage forms. Both infrared and Raman spectroscopic imaging may serve as useful nondestructive analytical techniques in the pharmaceutical product development and quality control. Most important application possibilities are reviewed and some studies demonstrate the advantages of the structure exploration. Raman imaging is suitable to understand and control the quality attributes of different dosage forms.

**Keywords:** microspectroscopy, Raman spectroscopy, NIR spectroscopy, dosage form mapping

### Összefoglalás

A kémiai térképezés a rezgési spektrometria egyik legdinamikusabban fejlődő területe. Mind a infravörös, mind a Raman spektrometrián alapuló térképezés egyre nagyobb jelentőséget kap a gyógyszerkészítmény-fejlesztés több területén. A kémiai térképezés valamelyik módszere számos gyártási vagy fejlesztési lépésben alkalmazható, porkeverékek homogenitásvizsgálatától kezdve a gyártási hibaanalízisen keresztül a késztermék végellenőrzéséig. E tanulmány a szakirodalom és kutatócsoportunk saját munkája alapján ismerteti az alkalmazási lehetőségeket, majd egy konkrét példán mutatjuk be a Raman-térképezés alkalmazását egy kapszula-pellet szerkezetének felderítésében. Sokváltozós adatelemzési módszerek segítségével kimutattuk, hogy a szerkezet-felderítés elvégezhető akkor is, ha a vizsgált készítményről semmilyen előzetes információval nem rendelkezünk. Ezáltal a Raman térképezés alkalmazható nemcsak ismert technológiájú készítmények tulajdonságainak megértésében, de ismeretlen minták elemzésében is.

**Kulcsszavak:** mikrospektroszkópia, Raman spektroszkópia, NIR spektroszkópia, gyógyszerforma térképezés

### 1. Bevezetés

A kémiai térképezés (angol nevén „chemical imaging”, rövidítve: CI) egyike a spektrometria jelenleg legdinamikusabban fejlődő területeinek. A tudomány és az ipar számos ágában nyer egyre nagyobb jelentőséget ez az ágazat, a félvezetőipartól [1] kezdve az orvostudományon [2], papíriparon [3], élelmiszeriparon [4] és műanyagiparon [5] át egészen a gyógyszer-technológiáig [6, 7]. Ez utóbbi területen tapasztalható a legdinamikusabb előrehaladás annak köszönhetően, hogy a gyógyszeriparban egyre nagyobb hangsúlyt kap a teljes folyamatszabályozás, azaz a folyamat-technikai (angol nevén „Process Analytical Technology”, rövidítve: PAT) igénye [6].

A PAT kezdeményezés lényege a tervezhető minőség koncepciója [8]. Jelenleg egy termék megbízható minőségét validálással, illetve idő- és energiaigényes végellenőrzési lépések folya-

matos elvégzésével érik el. E fáradságos teszt-sorozatok helyett kívánatos lenne, hogy a minőség már a fejlesztési fázisban „beépíthető” legyen a készítményekbe. A PAT alkalmazásának számos előnye lehet, de a legfontosabb nyereség a gyógyszer-gyárak számára, ha a készítmény a folyamat közben gyűjtött adatok alapján bizonyosan megfelel az előírásoknak, így a végellenőrzési lépések legnagyobb része hatósági engedéllyel kiiktathatóvá válhat. Ez a lehetőség komoly motiváló erőt jelent a gyógyszer-gyáraknak, hogy folyamataikat és az azokat befolyásoló változókat az eddiginél is mélyebben próbálják megérteni.

Mind a gyártásközi ellenőrzés, mind a folyamatok mélyebb megértését célzó vizsgálatok igénye indukálja az analitikai módszerek fejlődését. A jelen tanulmány bemutatja a rezgési spektrometrián alapuló kémiai térképezés helyét ebben az ágazatban.

2. Rezgési spektrometria és a kémiai térképezés alapjai

2.1. Rezgési spektrometriai módszerek

A rezgési spektrometria az anyagok rezgési energia-átmeneteit felhasználó szerkezetvizsgálati módszerek összessége. A vizsgálati módszer alapját az adja, hogy a molekulában az atomok állandó rezgőmozgásban vannak egyensúlyi helyzetük körül. A rezgési spektrumot alkotó sávok frekvenciája a molekulát felépítő atomok tömegétől, geometriai elrendeződésétől és a közöttük lévő kötések erősségétől függ.

A molekulák rezgései többféle módszerrel vizsgálhatók. A rezgési átmenetek energiája az infravörös frekvenciatartományú fény energiatartományával egyezik meg: ezt használja ki az infravörös spektrometria. Ha a fény frekvenciája megegyezik az atomok közötti rezgések frekvenciájával, az adott rezgések gerjesztése révén az anyag elnyelheti a ráeső fény energiájának egy részét.

Az infravörös tartományt három részre oszthatjuk. Zömmel kristályrezgések sávjai jelennek meg a távoli infravörös tartományban (FIR; 400-10 cm<sup>-1</sup> vagy 26-1000 μm). A molekularezgések gerjesztésére alkalmas fény frekvenciája a közepes infravörös tartományba esik (MIR; 4000-400 cm<sup>-1</sup> vagy 2,6-26 μm). Főként a rezgések kombinációi és felhangjai detektálhatók a közeli infravörös tartományban (NIR; 13000-4000 cm<sup>-1</sup> vagy 0,76-2,6 μm). Különösen a közepes és a közeli infravörös tartományt használják a gyógyszeriparban, melyek közül az utóbbi egyre nagyobb jelentőséggel bír a készítményfejlesztés területén. A közeli infravörös spektrometria gyógyszeripari alkalmazási lehetőségeit részletesen tárgyalja több összefoglaló közlemény is [9, 10].

A Raman spektrometria a Raman-szórás jelenlégén alapul, melynek során a mintára sugárzott

fény rugalmatlan szórást szenved, s a visszavert fény a besugárzó frekvenciánál kisebb vagy nagyobb frekvenciájú fotonokat is tartalmaz. A fotonok túlnyomó többsége rugalmasan szóródik (Rayleigh-szórás), és csak elenyésző hányaduknak (10<sup>-6</sup>-10<sup>-4</sup>) változik meg a frekvenciája (Raman-szórás). Mivel ez a részarány rendkívül kicsiny az eredeti frekvenciájú sugárzáshoz képest, a vizsgálathoz nagy energiájú monokromatikus fényre van szükség. Ezt a legtöbbször látható vagy a közeli IR tartományba eső fényt lézerrel állítják elő. A visszaszórt fotonokból alkotott spektrumok jellegzetessége, hogy a rezgési sávok élesek, és jobban elkülönülnek egymástól, mint az infravörös spektrumban. A két módszer igen jól kiegészíti egymást: egyes sávok az IR, mások a Raman spektrumban jelennek meg intenzíven [11].

Mára a Raman spektrometria alkalmazása is elterjedtté vált a gyógyszeriparban. Rantanen és munkatársai a közelmúltban összefoglalták a vizsgálati módszer alkalmazási lehetőségeit, illetve a még fennálló kihívásokat a készítménygyártás különböző területein [12]. A Raman- és közepes infravörös spektrometria gyógyszeripari alkalmazását más szerzők is összefoglalták [13].

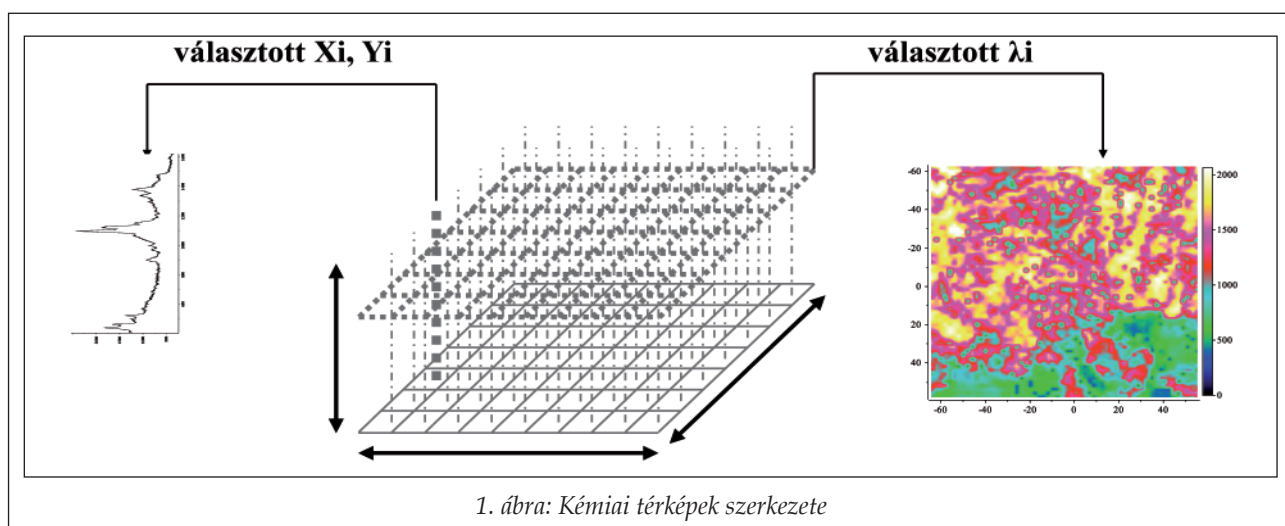
A spektrométerekkel történő vizsgálatok esetében az a cél, hogy a vizsgált mintatérfogot minél nagyobb legyen annak érdekében, hogy a felvett spektrum által hordozott információ reprezentatív legyen a teljes mintára vonatkoztatva. Amellett, hogy ezáltal megbízható vizsgálatok végezhetők, a nagy vizsgált mintatérfogattal elvesznek fontos információk a minta térbeli szerkezetével és a nagyon kis mennyiségben jelen lévő komponensekkel kapcsolatban.

2.2. Kémiai térképezés (chemical imaging)

A kémiai térképezéses metodikák ötvözik a spektrométer és a mikroszkóp előnyös tulajdonságait.

I. táblázat  
IR (NIR) spektrometria ((N)IRS), Raman spektrometria (RS) és a kémiai térképezés (CI) összehasonlítása [6]

Jellemző	(N)IRS	RS	CI
Spektrális (anyagszerkezeti) információ	+	+	+
Térbeli információ	-	-	+
Információ az összetételről	+	+	+
Érzékenység a kis koncentrációjú (minor) komponensekre	-	-	+
Minta felületi érdességéből eredő zavaró hatások kiküszöbölhetősége	+	-	+
Kvantitatív információ kalibráló sorozatok nélkül	-	-	+



Közös jellemvonásuk, hogy igen kis mintatérforagatról képesek kémiai információt szolgáltatni. Ugyan számos optikai spektrometriás módszer térképezési metodikává fejleszthető, a „kémiai térképezés” kifejezés alatt elsősorban rezgési (infravörös, illetve Raman-) spektrometriai technikákon alapuló módszereket értünk [6]. A rezgési spektrumok által hordozott, az egyes molekulákra igen jellemző információ ötvözhető a térbeli képalkotás lehetőségével, így megvalósíthatóvá válik a komponensek koncentrációjának és eloszlásának meghatározása heterogén rendszerekben.

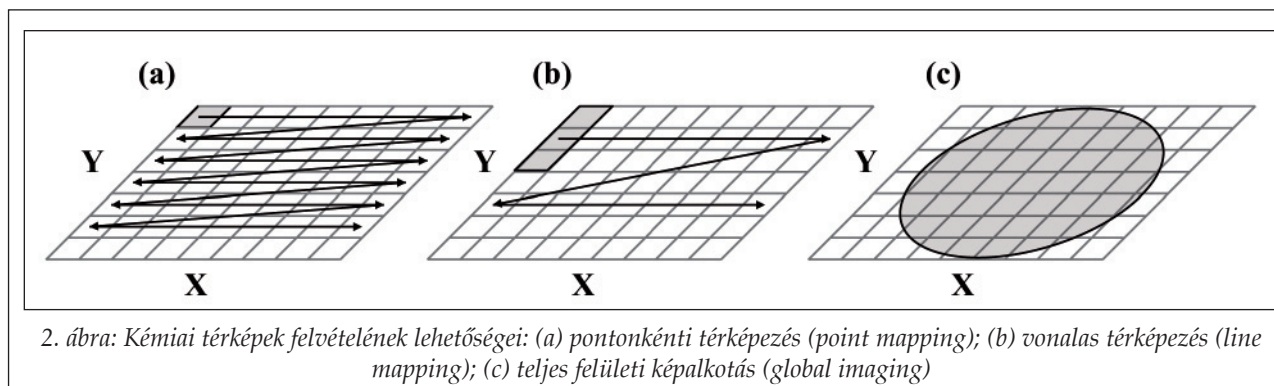
A kémiai térképeken minden mérési ponthoz egy-egy, az adott pontról felvett spektrum tartozik. A spektrumok ujjlenyomat-szerű információt hordoznak az adott pont anyagi minőségéről, és ez az információ felhasználható az összetétel számítására. Az adatok ennek megfelelően háromdimenziós elrendeződést mutatnak, melynek két élét a térbeli, harmadik élét a spektrális skála adja (1. ábra).

Jelenleg az összes spektrum egyidejű felvétele egyszerre mindegyik mérési pontban nem lehetséges. Amint a 2. ábra mutatja, háromféle mérési elrendezés áll rendelkezésre. Az egyik lehetőség a teljes hullámszám-tartományt felölelő spektrumok

felvétele pontról pontra haladva egy mozgatható tárgyasztal segítségével, mely technika a továbbiakban „térképezés” néven szerepel az összefoglalóban. A térképezés másik formája, amikor egy rezgő tükör segítségével nem egyetlen pontról, hanem egy vonal mentén egyszerre több pontról veszünk föl spektrumot. A harmadik módszer másféle műszer-felépítést igényel; alkalmazásakor a minta elemezni kívánt felületének egészéről készül kép egyetlen megadott hullámhosszon („képalkotás”). A hullámhossz változtatásával nagy számú kép készíthető, és ezek „egymásra helyezésével” jön létre az adathalmaz háromdimenziós szerkezete. A térképezési módszer (*mapping*) elsősorban a Raman spektrometriában elterjedt, a teljes felületi képalkotás (*global imaging*) pedig elsősorban a közeli infravörös spektrometriában vált szokásossá, de számos példa található a másik két kombinációra is.

### 2.3. Kémiai térképek elemzése

A kémiai térképek gyakran igen óriási adathalmazt alkotnak, amelyeknek nyers formában történő, illetve minden fontos részletre kitérő vizuális



értékelése szinte teljességgel lehetetlen. Ennek megfelelően szükség van egyrészt előzetes feldolgozásra, amely a zavaró tényezőket távolítja el, másrészt pedig olyan matematikai módszerekre, amelyek hasznos vizuális vagy éppen kvantitatív információt bányásznak ki az adathalmazból. Az utóbbi algoritmusokat összefoglaló néven *kemometriai* módszereknek nevezzük, részletes összefoglalásuk magyarul [14] és angolul [15] is megtalálható. E módszerek terjedelmi korlátok miatt a jelen tanulmányban nem kerülnek részletes ismertetésre, de hivatkozunk rájuk. Fontos azonban tudni, hogy a kemometriai módszerek alapvetően két csoportba sorolhatók: *felderítő statisztikai* módszerekre, amelyekkel teljesen ismeretlen minták elemezhetők és kvalitatív információt szolgáltatnak; illetve *regressziós* módszerekre, amelyekkel megbízható mennyiségi elemzés végezhető, de a vizsgált mintáról rendelkezésre kell állnia bizonyos előismereteknek.

### 3. Kémiai térképezés alkalmazási lehetőségei a gyógyszer-technológiában

A kémiai térképezés lehetősége – mint az már említésre került – egyre komolyabb figyelmet kap a gyógyszeriparban. Ennek bizonyítéka, hogy az ebben a témakörben megjelent publikációk egy jelentős részét olyan szakemberek írták, kik legalább részben valamelyik gyógyszergyár alkalmazásában állnak. Sok publikáció születik gyógyszergyárak és egyetemek együttműködéséből. Ez a tény nagy valószínűséggel annak köszönhető, hogy a kémiai térképezés a készítmény-technológia számos lépésében felhasználható a közti- vagy végtermékek ellenőrzésére, illetve a technológiai paraméterek hatásának megértésére. A következő fejezetekben a technológiai lépések mentén kerülnek ismertetésre az alkalmazási lehetőségek.

#### 3.1. Porkeverékek vizsgálata, homogenizálás

A készítmény alkotóelemeiből készített porkeverékek homogenitása a késztermék minőségbiztosításának egyik kulcskérdése. A homogenitás ellenőrzését klasszikusan a keverékből vett minta HPLC-s elemzésével végzik. Ehhez képest a kémiai térképezés roncsolásmentes vizsgálati lehetőséget kínál.

Klasszikus NIR spektrometria és NIR képalkotás, mint két roncsolásmentes technika összehasonlítását végezték el egyes szerzők eltérő keveré-

si idővel kevert porokból készült tabletták elemzésével [16]. További összehasonlítás céljából kereskedelembe kapható tablettákat is vizsgáltak. A kisebb homogenitási problémák jóval érzékenyebben detektálhatók voltak a NIR képalkotással, mint a klasszikus NIR spektrometriával, és érzékenyen előre jelezhető volt már kis mértékű minőségromlás is.

A fenti módszer off-line vizsgálatnak tekinthető, de így is komoly szerepet játszhat a készítményfejlesztésben – megoldható a keverési idő gyors optimalizálása – vagy a gyártásközi ellenőrzésben. Léteznek azonban kísérletek a keverés online követésére is [17]. A NIR képalkotást a homogenizálóban hat különböző helyen, zafírablakon keresztül valósították meg, minden pozícióban több képet készítve a két komponens (laktóz és szalicilsav) legerősebb sávjainak hullámhosszán. További, száloptikás on-line követési módszerek kidolgozását is ismertették az irodalomban [18] és az interneten [19] is, de ezek még kísérleti stádiumban vannak.

#### 3.2. Kölcsönhatást mutató hatóanyag-segédanyag rendszerek vizsgálata

Az egyszerű fizikai keverékek NIR térképezéssel jól vizsgálhatók, mert egyszerre nagy felszínről készíthető térkép. Olyan rendszerek esetében, ahol a hatóanyag és a segédanyag kölcsönhatásban áll egymással, a Raman spektrometriás pontonkénti térképezés több információt szolgáltat. A Raman sávok élessége lehetővé teszi a strukturális, fiziko-kémiai és molekulaszervezeti változások detektálását, a mikroszkópi optika pedig nagy (mikrométeres) térbeli felbontású térképek készítését. A módszer hátulütője, hogy nagy felület pásztázása sok időt vesz igénybe.

Hatóanyagok polimeres diszperziójának vizsgálatára több példa is található a szakirodalomban [20-22]. A kísérletek célja mindegyik esetben a hatóanyag amorf módosulatának stabilizálása volt. Raman térképezéssel vizsgálták különböző paraméterek (páratartalom, diszpergálási hőmérséklet, hatóanyag-polimer arány) függvényében az amorf módosulat, a racém kristályos módosulat és az optikailag aktív kristályok megjelenését és térbeli eloszlásának jellegét a diszperzióban. Bizonyos időközönként megismételve a vizsgálatokat meghatározható az amorf módosulat stabilitása és az állás közbeni kristályosodás kinetikája [21]. Egyes szerzők igen nagy, 0,1  $\mu\text{m}$ -es térbeli felbon-



tással készített Raman térképek segítségével különbséget tudtak tenni nanodiszperziós és molekuláris hatóanyag-eloszlás között, és ezt pásztázó, illetve alagútelektron-mikroszkópos felvételekkel támasztották alá [22].

A szilárd gyógyszer-diszperziók előállításának egyik legígéretesebb módszere az extrúzió. Az egyik legrégebbi, gyógyszerkészítmények térképezéses vizsgálatát bemutató közleményben a szerzők extrúzióval hozták létre ibuprofen és di(vinil-pirrolidon) diszperzióját. Az extrúziós technikával sikerült előállítani a hatóanyag amorf módosulatát, ezt és a hatóanyag homogenitását Raman térképezéssel ellenőrizték [23].

### 3.3. Hatóanyagok polimorfijának vizsgálata

A 3.2. fejezetben bemutatott kísérletekről már elmondható, hogy a fő cél a hatóanyagok morfológiájának befolyásolása (legfőképpen az amorf módosulat kialakítása) volt. A térképezéses technikák polimorfia elemzésére azonban nemcsak biner rendszerben amorfizált hatóanyagok esetén, hanem többkomponensű készítményekben is alkalmazhatók. A polimorf szennyezések könnyebben detektálhatók Raman térképezéssel, az infravörös technikák azonban hatékonyabban különbséget tudnak tenni az egyes hidrátok és szolvátok között [24].

Clark és társai számos példában mutatják be a Raman térképezés alkalmazhatóságát különböző polimorf módosulatok detektálására [24]. Két példában ismertetik polimorf szennyezések lokalizálását kémiai tisztá hatóanyagokban. Már 1 tömegszázaléknyi polimorf szennyezés is megbízhatóan kimutatható a módszerrel. Ezen túlmenően tablettázás előtti porkeverésekben is vizualizálták különböző módosulatú hatóanyagok térbeli eloszlását, mely során a teljes anyagmennyiséghez képest 0,025 tömegszázalékban jelen lévő hatóanyagpolimorf-szennyezést is sikeresen azonosítottak. Könyvükben bemutatják, hogy Raman térképezéssel követhetők a kristálmódosulatot érintő, a technológiai lépések során bekövetkező változások (pl. extrúzió vagy bevonás). A szerzők NIR képalkotással követték hatóanyagok hidráltságának mértékét különböző technológiai paraméterek mellett.

Több publikáció szerzői is beszámoltak arról, hogy kis mennyiségű (0,05 tömegszázalék) hatóanyagpolimorf-szennyezést mutattak ki tablettákban [25, 26]. Mivel a különböző polimorfok spekt-

ruma alig tért el egymástól, továbbfejlesztett kemometriai (ebben az esetben ún. *klaszterezési*) eljárásokat használtak a hatóanyag különböző módosulatú kristályszemcséinek minél pontosabb elkülönítésére a térképen. Raman mikroszkópia és atomierő-mikroszkópia együttes alkalmazására is található példa [27], ahol a szerzők állítása szerint a két módszer jól kiegészíti egymást amorf anyagok felszínének vizsgálatában. Ebben a közleményben az is bemutatásra kerül, hogy a Raman térképezés nemcsak a felszínen, hanem a minta mélyebb rétegeiben is megvalósítható, további hasznos információt nyújtva.

Egy kutatócsoport transzmissziós üzemmódú Fourier-transzformációs infravörös (FTIR) térképezés alkalmazását mutatta be szabályozott körülmények közötti polimorfia-változások nyomkövetésére [28, 29]. A módszerrel szinte valós időben volt követhető nifedipine hatóanyag átalakulása a  $\beta$  módosulatából az  $\alpha$  módosulatba, megadott hőmérséklet és relatív páratartalom mellett.

### 3.4. Ismert, illetve ismeretlen komponensek detektálása és eloszlásuk meghatározása

A kémiai térképezéssel leggyakrabban a készítményfejlesztés segítségét tűzik ki célul azért, hogy meghatározzák és értelmezik a komponensek készítménybeli eloszlását.

Granulátumok vizsgálatára viszonylag kevés publikáció található az irodalomban. A granulátum lehet egy technológia köztiterméke, ahol a komponensek eloszlásának vizsgálata segíthet megérteni a későbbi végtermék kioldódási tulajdonságait, vagy éppen a végtermékről készült komponenseloszlás-térképet. Granulátumok ilyen vizsgálatára a Raman felületi képalkotás előnyösebb választásnak bizonyult, mint a NIR térképezés [30]. A granulátumok azonban már késztermékként is szolgálhatnak (pl. kapszulatöltetként). Többretegű kapszulatöltet vizsgálatára sikerrel alkalmazták a NIR képalkotást [31] és a vonalas Raman térképezést [32], mellyel közvetlenül értelmezhetők a különböző pH-jú oldatokban tapasztalt kioldódási tulajdonságok.

Igen nagy számban találhatók tabletták analízisét bemutató közlemények, ahol változatos egy- vagy többváltozós módszerekkel határozzák meg az alkotó komponensek eloszlását, és különböző kérdéseket válaszolnak meg a térképek segítségével. A közlemények egy része pusztán ismertető



jellegű [33, 34], illetve nyomnyi szennyezők detektálását mutatják be [34]. Kutatócsoportunk nemrégiben elfogadott közleményében a szerzők különböző technológiákkal előállított modelltablettákon vizsgálták, hogy a gyártási módszer (direkt préselés, különböző granulálási módszerek) hogyan befolyásolja az egyes komponensek térbeli eloszlását a készítményben [35].

Megfelelő kemometriai módszereket alkalmazva mód nyílik arra, hogy a komponensek detektálását és térbeli eloszlásuk meghatározását anélkül végeznénk el, hogy ismernénk őket ill. a spektrumukat. Így teljesen ismeretlen készítményekről is értékes információ nyerhető az összetételt és a belső szerkezetet illetően.

Ugyanolyan optikai nagyítás mellett felvett NIR és Raman térképek referencia-spektrumok nélküli kiértékeléséből kiderül, hogy az utóbbival – a sávok jobb elkülönülése miatt – több komponens azonosítható [36]. A Raman térképeken az általánosan alkalmazott kiértékelési módszer, a főkomponens-analízis mind az öt alkotó komponenszt „megtalálta” és eloszlásukat vizualizálni tudta, a NIR térképen ezzel szemben az algoritmus nem találta meg a két minor komponens spektrumát.

Számos további közlemény bizonyítja, hogy a Raman térképek különböző egy- [37] vagy többváltozós [38-40] algoritmusokkal kiértékelve megbízhatóan szemléltetik a komponensek térbeli elhelyezkedését. *Sasic* és *Ozaki* egy igen egyszerű kiértékelési módszert javasoltak [41], mellyel szintén jól becsülhető az alkotó komponensek spektruma, majd a térbeli eloszlása [42]. Egy új, de jóval bonyolultabb algoritmus segítségével a nyomokban jelenlévő komponenseknek nemcsak a jelenléte, hanem spektruma is viszonylag nagy pontossággal megállapítható [43]. *Bell* és társai hatáságilag elkobzott kábítószer-tabletták többváltozós módszerekkel segített analíziséről publikáltak közleményeket [44], *Gendrin* és társai összefoglalójában [7] pedig számos példa található (akár interneten rendelhető) gyógyszer-hamisítványok azonosítására és jellemzésére. E két utóbbi példa azt bizonyítja, hogy nemcsak a gyógyszeripari, de a bűnügyi gyakorlatban is sikeresen alkalmazható a kémiai térképezés.

### 3.5. Gyártási paraméterek hatásának megállapítása, hibaanalízis

A kémiai térképezés egyik legperspektivikusabb területe a gyártási paraméterek felügyelése, bár

közvetve a legtöbb eddig tárgyalt terület is ezt a célt szolgálja.

*Reich* a Fourier-transzformációs infravörös (FTIR) képalkotás kétféle alkalmazását írja le [45]. Egyrészt ellenőrizhető a bevonó film vastagságának egyenletessége. Másrészt kémiaileg térképezte egy modell fehérje eloszlását PLGA (poli-laktát-ko-glikolat) mátrixú tablettában rögtön a gyártás után, illetve a kioldódás közben. Eredményei megmutatták, hogy a bevont tabletták hőkezelése egyenletesebb bevonatvastagságot biztosít, illetve azt, hogy *in vitro* kioldódási körülmények közt a fehérje egy bizonyos idő elteltével hogyan jelenik meg a tabletta felszínén.

*Kazarian* és társai többféle szilárd gyógyszerkészítmény esetében vizsgálták a gyártási paraméterek hatását. PEG-griseofulvin keverékeket vizsgáltak a relatív páratartalom többféle értéke mellett egy olyan mérési elrendezéssel, mellyel vizsgálható a minták különböző részein abszorbeálódó víz mennyisége. Kimutatták, hogy a rendszerben a víz nagy részét a polimer vette fel, a hatóanyag térbeli eloszlása pedig egyáltalán nem változott [46]. Ezután egy olyan mintatartót készítettek, mely lehetővé teszi 100 hatóanyag-polimer formuláció egyidejű vizsgálatát azonos külső körülmények között (67% relatív páratartalom 30 percig). Ebben különböző arányú PEG-nifedipin keverékeket vizsgáltak, és azt találták, hogy ebben az esetben éppen ott történik nagyobb pára-abszorpció, ahol nagyobb mennyiségű hatóanyag van jelen [47]. Ugyanezen szerzők vizsgálatai kiterjedtek a kontrollált körülmények közti polimorfia-vizsgálatra is [31, 32]. Egy további tanulmányukban tablettázás optimalizálását tűzték ki célul, és bemutatták, hogy az elkészült tabletták sűrűsége (és sűrűség-eloszlása) hogyan változik a lubrikáns (pl. Mg-sztearát) hozzáadásával [48]. Egy újabb közleményükben nedvesség és préselési erő hatását írják le egy modell keverék tablettázására. Eredményeik alapján a tabletták sűrűsége nőtt a nedvességtartalom növekedésével [49].

Két további tanulmányban MIR kémiai térképezést használtak valós készítmények gyártási folyamatait érintő problémák megoldásában [50, 51]. Az egyik probléma a mintákban észlelt szennyeződés volt, a másik pedig a tabletták kioldódását érintette. A szennyeződés a vizsgálatok alapján indigókármin festék és gyógyszer-segédanyagok nagy nedvességtartalmú keverékének adódott, a kioldódási problémákat pedig a tabletta fe-

lületén ragadt nagyobb mennyiségű Mg-sztearát okozta.

Hammond és Clarke a NIR pontonkénti térképezés négyféle alkalmazását írta le folyamatok hibaanalízisére [52]. (1) Egy rossz gördülékenységgű porkeverékben a hiba okát NIR térképek alapján a lubrikáns egyenetlen eloszlása okozta. (2) Tablettázó szerszámba ragadó tablettáknál a térképezés nagy mennyiségű szerves töltőanyagot mutatott ki a ragadó felületeken. (3) Egy szénhidrát-komponens beszállítójának megváltoztatásakor kialakuló rossz tablettá-kopási eredmények hátterében a térképek alapján az állt, hogy az új szénhidrát jobban összekeveredett a készítményben alkalmazott szerves töltőanyaggal; a jobb keveredés gyengébb tablettaszerkezetet, ez pedig erősebb kopást eredményezett. (4) Egy készítmény nagy nedvességfelvételének okát az alkalmazott lubrikánsban találták meg.

Clarke, a kémiai térképezést legkiterjedtebben alkalmazó Pfizer cég munkatársa, két további alkalmazást publikált ebben a témakörben [53]. Az egyik egy feldolgozhatósági probléma megoldása volt: a rosszul feldolgozható mintáról készített térképen a polimer komponens nagyobb klasztereket alkotott. A másik esetben vonalas NIR térképezéssel mutatták ki, hogy a kioldódási tulajdonságok a tablettá préselési erejétől függtek: a nagyobb préselési erő a dezintegráns nagyobb klaszter- (azaz szemcse-) méretét eredményezte.

Extrúziós granulálás folyamat-paramétereit (csiga forgási sebessége, bemenő hatóanyag szemcsemérete) is vizsgálták két gyártási köztitermékben [54]. Az első köztitermék esetében kimutatták, hogy a csiga sebességének növelésével növekszik az extrudátum homogenitása, illetve csökken az érdessége. A második köztitermékben (bevonásra váró tablettá-mag) a kémiai térkép analízise kimutatta, hogy a nagyobb csigasebesség apróbb hatóanyag-szemcséket eredményez a tablettában.

Mind az előbb ismertetett NIR vizsgálatban [54], mind a Raman térképeken [25] jól követhető, hogy a bemenő hatóanyag szemcseméretének csökkentése kisebb klasztereket eredményez a belőlük készült tabletták térképein. Egy másik jelenségből is látszik, hogy nagyobb szemcseméretű hatóanyagot használva nagyobb API agglomerátumokat látunk a keverékben [55] (itt egyébként a különböző szemcseméretű hatóanyagok keveredési tulajdonságait elemezték). Tablettázás során végbemenő aprózódás jelenségét is tanulmányozta egy kutatócsoport, ahol különböző részecske-

méretű hatóanyagot tartalmazó keveréket tablettáztak, és vizsgálták a részecskeméretet a tabletták tetején és az alján [56]. Nagy részecskeméret esetén szignifikáns különbséget találtak a felső és alsó régió átlagos hatóanyag-részecskeméretében, tehát kimutatták, hogy a szegregáció elkerülése végett (ezáltal a tervezhető minőség érdekében) célszerű finom szemcsés hatóanyagot használni.

Mind NIR [57], mind Raman [35] kémiai térképezéssel lehetséges a tablettázás során alkalmazott préselési erő hatásának vizsgálata. A két tanulmány kezdeti lépésnek tekinthető a porozitás spektrometriai, roncsolásmentes meghatározására. Egy másik nemrég közölt cikkben tablettákon belüli sűrűség-eloszlás meghatározása található meg NIR térképezéssel. Egyrészt elemezték, hogyan oszlik el a préselési erő a tablettán belül a folyamat közben (hol történik meg a legnagyobb ill. legkisebb tömörítés), másrészt pedig vizsgálták a lubrikáns hatását a préselés folyamatára [58].

Ozaki egy új, aszimmetrikus 2D korrelációnak nevezett módszerrel értékelt ki különböző ideig őrlött porkeverékekből készített tablettákat. Egyik – várható – megfigyelése volt, hogy hosszabb őrlési idő esetén a tablettá sokkal homogénebb szerkezetű lesz. A kiértékelési módszer azonban fényt derített a hatóanyag szerkezetének őrlés hatására végbemenő megváltozására (amorfizálódására), amely befolyásolja a kioldódást [59].

### 3.6. Részecskeméret-meghatározás

A részecskeméret kvalitatív elemzése, illetve a technológia részecskeméretre gyakorolt hatása több közleményben megtalálható, ahogy azt a 3.5. fejezet is mutatja. Hatóanyagok részecskeméretének kvantitatív meghatározására Raman kémiai térképezéssel (ebben az esetben felületi képalkotással) azonban csak egyetlen kutatócsoport vállalkozott [60]. Egy validáló lépésben polisztirol mikrogömbök méretével ellenőrizték a Raman képalkotás és a mikroszkópi optikai kép alapján megállapított szemcseméret helyességét. Ezután orrspray készítményben alkalmazott mikronizált hatóanyag részecskeméret-eloszlását határozták meg mikroszkópi (sima és polarizált fényű) optikai kép alapján és Raman képalkotással. Az eredményeket ellenőrizték a részecskeméret-eloszlás meghatározására általánosan elfogadott lézeres fényszórás segítségével. A Raman képalkotás előnye, hogy aggregált, nagyobb szemcsékben is azonosítani tudja a hatóanyag-szemcséket, és

megállapítani azok pontos méretét, míg a többi módszerrel ez nem lehetséges. A módszer hátránya, hogy időigényes, illetve jelenlegi formájában nehezen automatizálható a részecskeméret-meghatározásra alkalmas szoftverek bonyolultsága miatt.

### 3.7. Bevonatok vizsgálata, bevonatvastagság- roncsolásmentes meghatározása

A komponensek térbeli eloszlásának megjelenítése nemcsak orális készítmények, de hatóanyag-tartalmú bevonattal rendelkező ér-implantátumok (*stentek*) esetében is lehetséges [61]. Egy másik publikáció bemutatja azt, hogy a térképezés a bevonat különböző rétegeiben is megvalósítható, és a mélység függvényében felderíthetők a hatóanyag-eloszlás eltérései [62].

A mikrospektrometriai módszerek makroszkopikus rokonaikhoz hasonlóan alkalmasak bevonatvastagság meghatározására. Ennek kvalitatív módja is lehetséges [45, 63, 64], de már található publikáció az ipari hasznosításhoz közelebb álló, a bevonatvastagság mennyiségi meghatározását lehetővé tevő alkalmazásra [65]. Hozzá kell tenni, hogy ez utóbbi munkában a Raman-mikroszkópot tulajdonképpen egyszerű spektrométerként használták. A NIR képalkotás hasonlóképp használható [66]. E módszerek a későbbiekben felválthatják a jelenlegi tömegmérésen alapuló bevonatvastagság-mérést.

### 3.8. Végellenőrzés, nagyhatékonyságú termékelemzés

A felületi képalkotásos módszerekkel egyszerre igen nagy terület is vizsgálható. Ez akár a bliszter csomagoláson keresztül is megvalósítható, akár NIR, akár Raman térképezést vagy képalkotást alkalmazva. Így például a vizsgálható a nedvességtartalom egyszerre (vagy gyors egymásutánban) több ezer tablettában is [67, 68]. A spektrális információ egyúttal lehetővé teszi hasonló szerkezetű molekulák (pl. szalicilsav és acetilszalicilsav) megkülönböztetését referencia spektrumok nélkül is [69]. A bliszteren keresztüli, illetve a nagy mennyiségű minták vizsgálatának további példája a már ismertetett hamisítvány-azonosítás [7].

E nagyszámú mintát egyszerre vizsgálni képes, ún. *nagy áteresztőképességű (high-throughput)* módszerek alkalmazására olyan példát is bemutatnak, ahol a hatóanyagok mennyiségi meghatározását is sikerrel elvégezték egyetlen kiválasztott sáv in-

tenzitása alapján. Az elemzés jóságát UV spektrometriával ellenőrizték, és a két módszer jó egyezést mutatott. Ez előrevetíti a NIR képalkotás rutinszerű ipari alkalmazását, mert a módszerrel egyszerre ellenőrizhető a tabletták hatóanyag-tartalma, homogenitása, illetve – tekintve, hogy egy vizsgálattal igen nagyszámú tablettáról készíthető kép – megvalósulhat a 100%-os termékellenőrzés.

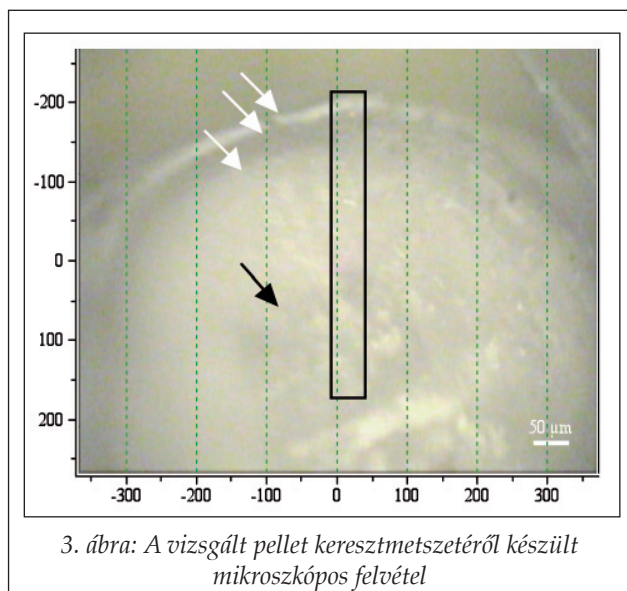
## 4. Raman térképezés alkalmazásának bemutatása egy kapszula-pellet példáján

A készítményfejlesztés során igen hasznos lehet a fejlesztés alatt álló vagy a fejlesztés alapját képező készítmény szerkezetének megértése. A Raman térképezés segítségével előre jelezhetők bizonyos kioldódási jellemzők, illetve a komponensek eloszlása alapján ellenőrizhető ill. becsülhető az alkalmazott gyártási technológia. Bizonyos esetekben – például hamisítvány-gyanús, vagy teljesen ismeretlen, pl. hatóságilag lefoglalt, kábítószer-tartalmazó készítmények esetén – nagyon kis mennyiségű információ áll rendelkezésre a mintáról. Az is előfordulhat, hogy az analitikus voltaképpen semmit sem tud az adott készítményről. Jelen tanulmányban egy kapszula-pellet példáján bemutatjuk, hogy a kémiai térképezés és a modern adatelemzési (kemometriai) módszerek ötvözésével előzetes információ nélkül is felderíthető egy készítmény belső szerkezete. E készítmény választását az indokolta, hogy ismeretlen kapszulák Raman térképezéses vizsgálatára még nincs példa a nemzetközi szakirodalomban.

### 4.1. Alkalmazott mérési elrendezés

A vizsgálatokat a HORIBA Jobin Yvon cég által gyártott LabRam típusú Raman-mikroszkóppal végeztük. A 785 nm hullámhosszú gerjesztő fényt egy félvezető diódalézer sugárforrás biztosította. A berendezésben a lézersugár egy megfelelő optikai tükör- és szűrőrendszeren keresztül egy (mikrométeres felbontást biztosító) Olympus BXC-40 típusú optikai *mikroszkóp*ba jut. A sugár a mikroszkóp cserélhető *objektívein* keresztül kerül a mintára. Jelen vizsgálatok alkalmával 100x-os nagyítást alkalmaztunk, mellyel a lézer fókuszpontjának átmérője 1,0  $\mu\text{m}$ . A visszaszórt fényt ugyanez az objektív gyűjti össze, majd egy tükörrendszeren, köztük egy, a Rayleigh-szórászt kiszűrő féligáteresztő tükrön keresztül egy optikai rácstra (1800 vonás/mm) bocsát-





ja. A hullámhossz szerint felbontott fény egy hűtött diódasoros (CCD) detektorra kerül.

#### 4.2. Vizsgálatok

„Ismeretlen” mintaként a kereskedelmi forgalomban Cymbalta néven kapható kapszula szolgált, amelynek hatóanyaga duloxetin. A kapszula töltetét alkotó pelletek közül egyet félbevágtunk, és azt a tárgyasztalon vágott felületével fölfelé ragasztóval rögzítettük. A vágott felület egy részéről (3. ábra) Raman térképet készítettünk, melynek sugárirányú (Y) felbontása 2 μm, míg az erre merőleges (X) irányú 10 μm volt. (A viszonylag hosszú mérési idő és a térkép nagy mérete miatt volt szükség az X irányú felbontás csökkentésére).

A spektrumok felvételét 400-1630 cm<sup>-1</sup> tartományban végeztük 20 s felvételi idővel és pontonként 2 spektrum átlagolásával.

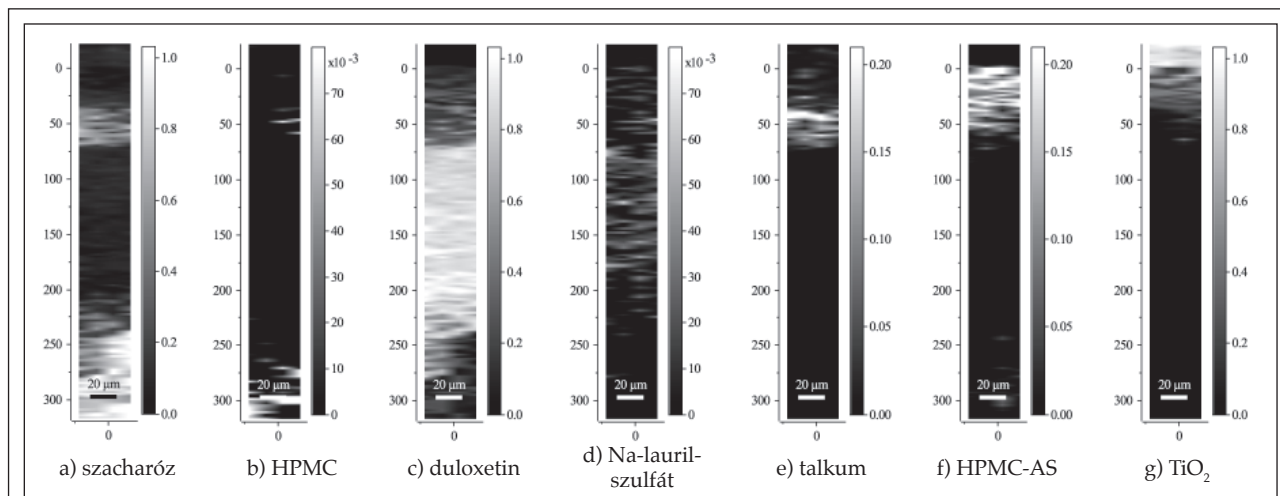
A kiindulási komponensekről is felvettünk spektrumokat 20 s felvételi idővel és 5 pont átlagolásával (referencia-spektrumok).

#### 4.3. Adatelemzés

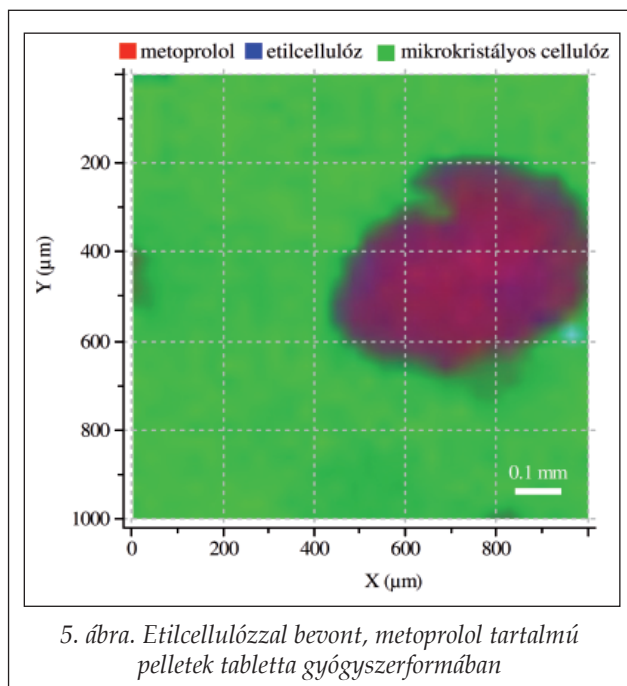
A térkép spektrumait először alapvonal-korrekciónak és normálásnak vetettük alá.

Az egyik megközelítésben a mintát teljesen ismeretlennek tekintettük, és nem használtuk fel a betegtájékoztatóban található, az alkotó komponensekre vonatkozó információt. A komponensek spektrumait interaktív főkomponens-analízist (IPCA) követő ALS (*alternate least squares*) iterációval határoztuk meg. (Ezt a továbbiakban a szakirodalmi terminológiával megegyezően MCR (*multivariate curve resolution*)-ALS módszernek nevezzük. A matematikai részletekre e tanulmányban nem térünk ki, a pontos ismertetésük megtalálható a hivatkozott közleményekben [7, 70]. A számításokat az Unscrambler 9.8 szoftverrel végeztük.) A térkép spektrumait ezután a klasszikus legkisebb négyzetek módszerével (CLS – *classical least square*) [7] modelleztük az így kapott „tisztá” spektrumok felhasználásával, ezáltal a térkép minden pontjában meghatároztuk a komponensek koncentrációit. A koncentrációkat a hely függvényében vizuálisan ábrázoltuk a Labspec 4.02 szoftver segítségével.

A fentiek után ellenőrzésképpen a kiindulási komponensek referencia-spektrumainak felhasználásával



4. ábra: A pelletet alkotó komponensek térbeli eloszlása a Raman-spektrumok alapján (modellezés a valódi referencia-spektrumokkal)



nálásával is elvégeztük a vizsgálatokat CLS módszer alkalmazva.

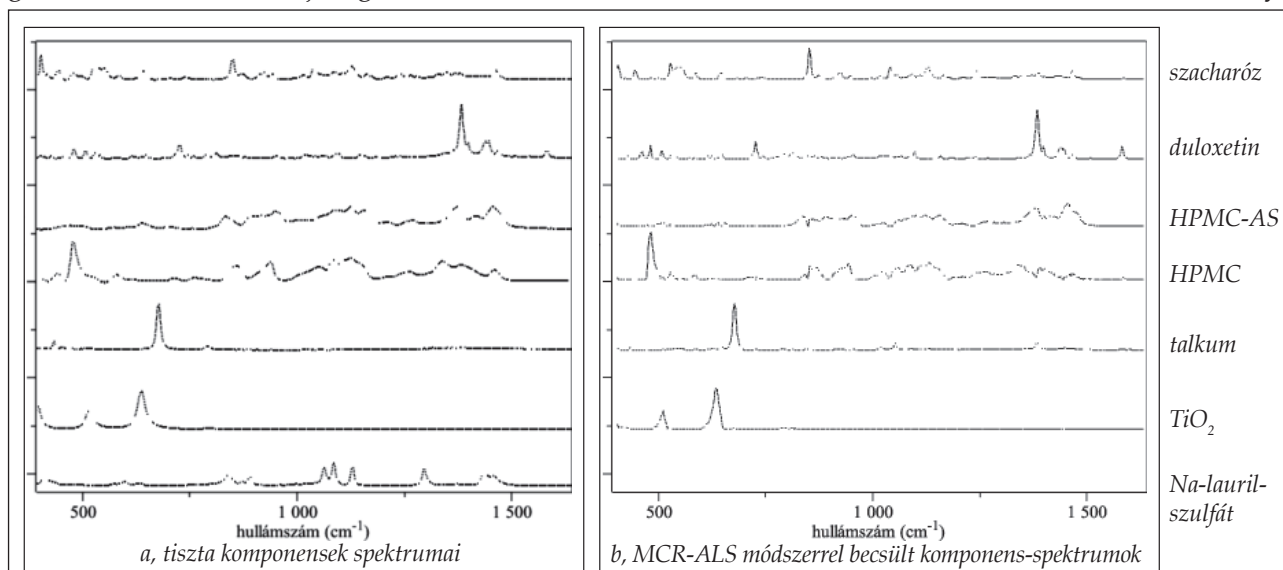
#### 4.4. Eredmények a tiszta komponensek referenciaspektrumainak felhasználásával

A térképek sematikus elhelyezkedését a 3. ábra szemlélteti. Az egyes rétegek határfelületeit nyilak jelzik. Az optikai mikroszkópos kép, bár már látható rajta a pellet réteges szerkezete, nem ad információt az egyes rétegek összetételéről és a rétegek közti határfelületek jellegéről.

A tiszta alkotó komponensekről felvett referencia-spektrumok segítségével megjeleníthető az összes komponens koncentrációeloszlás-térképe (4. ábra). A pellet közepét szacharóz mag alkotja, amelyben kötőanyagként a HPMC is jelen van (4. a és b ábrák alsó része). Az eredmény nem meglepő, hiszen a gyógyszeripari gyakorlatban a pelletek túlnyomó részének közepét cukor jellegű anyag alkotja.

A magot egy vastag hatóanyagréteg borítja (4. c ábra). A cukor mag és a hatóanyagréteg határa elmosódott, egy kb. 60  $\mu\text{m}$  vastag átmeneti rétegben mindkét anyag megtalálható. Ebből arra lehet következtetni, hogy a hatóanyagot nedves eljárással (pl. porlasztva szárítás) vitték fel olyan oldószerből, ami oldja a szacharózt és a hatóanyagot is.

A hatóanyag fölötti réteg talkumot tartalmaz HPMC kötőanyag mellett (4. b és e ábrák). Ez alapján valószínűleg nyújtott hatóanyag-leadású készítményről van szó, mert a talkumot kioldódást késleltető záró réteggént szokták alkalmazni. A hatóanyag egy kis százaléka itt is megtalálható, ez arra utal, hogy a talkum felvitelét nem előzte meg szárítási művelet. Valószínűsíthető, hogy a hatóanyag jól oldódik a technológia során használt oldószerben (amely a legtöbb esetben víz), és a nedvességgel együtt kerül a talkumos rétegbe. A következő felvitt réteg hidroxipropil-metil-cellulóz-acetát-szukcinátot tartalmaz. Több pontban detektálható a HPMC spektruma is (4. b ábra), ez vagy arra utal, hogy közösen vitték föl őket ebben a rétegben, vagy pedig a keverék spektrum modellezésénél elkövetett illesztési hiba következménye



6. ábra: A kemometriai módszerekkel becsült és a valódi spektrumok összehasonlítása



lehet, hiszen a két spektrum nagyon sok hasonlóságot mutat.

A fenti három réteg mindegyike tartalmaz kis mennyiségű Na-lauril-szulfátot, a legkülső réteg pedig titán-dioxidot tartalmaz, mely egy erősen reflektáló, nagyon erős Raman jelet adó anyag.

A gyógyszerforma szerkezetének felderítésére illetve ellenőrzésére alkalmazott kémiai térképezés lehetőségeit szemlélteti az 5. ábra. A tabletta keresztmetszetének részletén megfigyelhető, hogy a préselvény bevont pelleteket tartalmaz. A nyújtott hatóanyagleadásért a metoprolol-tartalmú szemcsék körül kialakított etilcellulóz bevonat épisége a felelős. A kémiai térképezés segít a polimerbevonat épiségének ellenőrzésében.

#### 4.5. Eredmények referencia-spektrumok felhasználása nélkül

Az ebben a fejezetben ismertetendő vizsgálat során az előbb bemutatott térkép matematikai feldolgozásához semmilyen külső információt nem használtunk fel, kizárólag a térkép által hordozott adatokat. MCR-ALS módszerrel becsültük a kiindulási komponensek spektrumait. Az eredmény a 6. ábrán látható a valódi spektrumokkal összehasonlítva.

A 6. ábrán látható, hogy a kemometriai módszer igen nagy pontossággal képes reprodukálni a nagyobb mennyiségben jelen lévő komponensek spektrumát. Az egyedüli komponens, amelynek spektruma nem volt detektálható, a Na-lauril-szulfát: kis mennyisége és viszonylag homogén eloszlottsága nem teszi lehetővé a spektrum elegendően pontos becslését.

Az MCR-ALS módszerrel számolt koncentrációk a 4. ábrához hasonlóan ábrázolhatók a hely függvényében. A 4. és 7. ábra összehasonlítása alapján megállapítható, hogy a térképből becsült spektrumok segítségével majdnem ugyanolyan pontossággal meghatározható a komponensek eloszlása, mint a referenciaspektrumok felhasználásával. Mindössze két helyen észleltünk nagyobb pontatlanságot: egyrészt MCR-ALS módszerrel nagyobb mennyiségű szacharózt detektáltunk a külső titándioxidos rétegben (7. a ábra, nyíllal jelölt terület) illetve HPMC-AS jelenlétét mutattuk ki a hatóanyagos rétegben és a magban (7. e ábra). Az ilyen pontokhoz tartozó spektrumok vizuális elemzésével azonban egyértelműen eldönthető, valóban jelen van-e a komponens az adott pontban, vagy a spektrumok hasonlóságából eredő

modellezési hiba okozza a komponens detektálását. (Ebben az esetben a spektrumok vizuális elemzése megerősítette, hogy nem tartalmaz szacharózt a külső mag.)

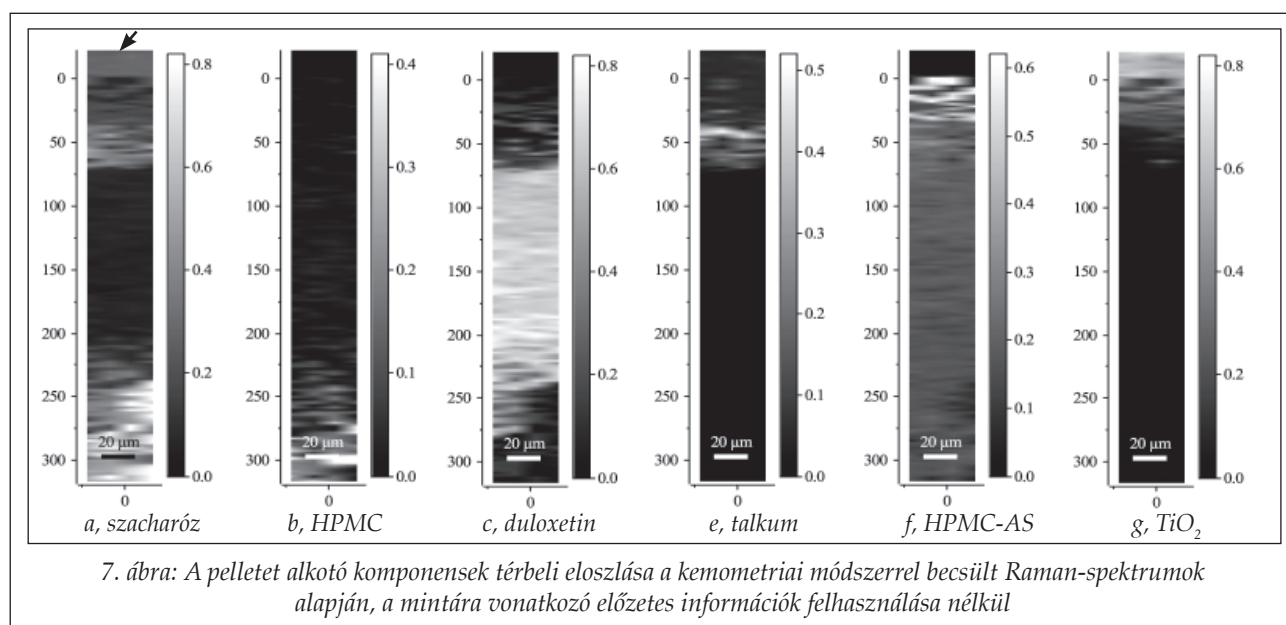
Látható tehát, hogy a Raman mikrospektrometriás térképezési módszer alkalmas arra, hogy megállapítsuk a kvalitatív összetételt és a komponensek elhelyezkedését kész granulátumok vagy pelletek esetében. Ezzel kiegészítve a jelenleg egyedüli ellenőrzési módszerként alkalmazott kioldódásvizsgálatot lehetségessé válik a bevonási technológia pontosabb ellenőrzése és az esetleges hibák felderítése, emellett a készítmény szerkezetének és viselkedésének összefüggései is pontosabban vizsgálhatók. A módszer további előnyös tulajdonsága, hogy a vizsgálathoz szükséges anyagmennyiség elenyésző, és a módszer jól automatizálható, ezáltal részét képezheti a termék gyártásközi ellenőrzésének.

## 5. Összefoglalás

A gyógyszeriparban egyre nagyobb jelentőségű folyamat elemző technológia (PAT) által kitűzött célok lényege a technológiai folyamatok mélyebb megértése, illetve a minél teljesebb körű gyártásközi és végellenőrzés lehetőségének megteremtése. Az infravörös és Raman alapú kémiai térképezés különböző formái a készítmény-technológia szinte valamennyi lépésében használhatók, de egyelőre csak néhány helyen kerültek alkalmazásra kísérleti jelleggel. A kémiai térképezéssel kapcsolatos publikációk száma exponenciális növekedést mutat. Jelentős részük legalább egy szerzője gyógyszergyári alkalmazásban áll. A térképezési módszerek fontos szerepet kaphatnak a készítményfejlesztésben, hiszen olyan új információt fednek fel a gyártási paraméterek termékre gyakorolt hatásáról, amelyre egyetlen más módszer sem képes.

A kutatócsoportunkban végzett és itt közölt vizsgálatok eredményei azt bizonyítják, hogy a Raman térképezés eredményének kemometriai feldolgozásával ismeretlen készítmények belső szerkezete is viszonylag nagy pontossággal felderíthető. Az alkalmazott kemometriai módszer (MCR-ALS) megbízhatóságát (mind a spektrum becslésének jóságát, mind a becsült komponenseloszlás pontosságát) a kiindulási anyagok referencia-spektrumainak segítségével ellenőriztük.

A képalkotásos módszerek nagy előnye a térképező módszerekhez képest gyorsaságukban rejlik,



ezáltal elérhetővé téve azt a célt, hogy minden egyes termék (pl. tabletta) ellenőrizhető legyen. A bemutatott eredmények és a szakirodalmi adatok alapján várható, hogy a kémiai térképezés hamarosan általánosan elfogadott és alkalmazott módszerre válik.

## 6. IRODALOM

1. Yang, X.M., Tryk, D.A., Hasimoto, K., Fujishima, A.: Appl. Phys. Lett. 69. 4020–4022. (1996).
2. Ferris, D., Lawhead, R., Dickman, E., Holtzapple, N., Miller, J., Grogan, S., Bambot, S., Agrawal, A., Faupel, M.: J. Low. Genital Tract Dis. 5. 65–72. (2001).
3. Tatzler, P., Wolf, M., Panner, T.: Real- Time Imaging 11. 99–107. (2005).
4. Robert, P., Bertrand, D., Devaux, M.F., Sire, A.: Anal. Chem. 64. 664–667. (1992).
5. Markwort, L., Kip, B., Da Silva, E., Roussel, B.: Appl. Spectrosc. 49. 1411–1430. (1995).
6. Gowen, A.A., O'Donnell, C.P., Cullen, P.J., Bell, S.E.J.: Eur. J. Pharm. Biopharm 69. 10–22. (2008).
7. Gendrin, C., Roggo, Y., Collet, C.: J. Pharm. Biomed. Anal. 48. 533–553. (2008).
8. [www.fda.gov/cder/OPS/PAT.htm](http://www.fda.gov/cder/OPS/PAT.htm)
9. Räsänen, E., Sandler, N.: J. Pharm. Pharmacol. 59. 147–155. (2007).
10. Roggo, Y., Chalou, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., Jent, N.: J. Pharm. Biomed. Anal. 44. 683–700. (2007).
11. Keresztury, G.: Rezgési spektroszkópiai módszerek (IR, Raman), in: I. Bertóti, Gy. Marosi, A. Tóth (Eds.): Műszaki felülettudomány és orvosbiológiai alkalmazásai, B+V Lap- és könyvkiadó KFT, Budapest, 2003, p. 166–186.
12. Rantanen, J.: J. Pharm. Pharmacol. 59. 71–177. (2007).
13. Wartewig, S., Neubert, R.H.H.: Adv. Drug Deliv. Rev. 57. 1144–1170. (2005).
14. Horvai, Gy.: Sokváltozós adatelemzés (kemometria), Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2001.
15. Mark, H., Workman, J.: Chemometrics in Spectroscopy, Academic Press, San Diego, 2007.
16. Lyon, R.C., Lester, D.S., Lewis, E.N., Lee, E. Yu, L.X., Jefferson, E.H., Hussain, A.S.: AAPS Pharm. Sci. Tech. 3. 17. (2002).
17. El-Hagrasy, A., Morris, H.R., D'Amico, F., Lodder, R.A., Drennen, J.K.: J. Pharm. Sci. 90. 1298–1307. (2001).
18. Lewis, E.N., Kidder, L.H., Lee, E.: Innov. Pharm. Technol. 107–111. (2005)
19. <http://www.in-pharmatechnologist.com/news/ng.asp?n=57633-chemicalimaging-investigated>.
20. Furuyama, N., Hasegawa, S., Hamaura, T., Yada, S., Nakagami, H., Yonemochi, E., Terada, K.: Int. J. Pharm. 361. 12–18. (2008).
21. Docoslis, A., Huszarik, K.L., Papageorgiou, G.Z., Bikiaris, D., Stergiou, A., Georgarakis, E.: AAPS Journal 9. E361–E370. (2007).
22. Karavas, E., Georgarakis, M., Docoslis, A., Bikiaris, D.: Int. J. Pharm. 340. 76–83. (2007).
23. Breitenbach, J., Schrof, W., Neumann, J.: Pharm. Res. 16. 1109–1113. (1999).
24. Clark, D., Henson, M., Laplant, F., Šašić, S.: in: D.E. Pivonka, J.M. Chalmers, P.R. Griffiths (Eds.), Applications of Vibrational Spectroscopy in Pharmaceutical Research and Development, John Wiley & Sons, London, 2007, p. 309–335.
25. Henson, M.J., Zhang, L.: Appl. Spectrosc. 60. 1247–1255. (2006).
26. Lin, W.-Q., Jiang, J.-H., Yang, H.-F., Ozaki, Y., Shen, G.-L., Yu, R.-Q.: Anal. Chem. 78. 6003–6011. (2006).
27. Ward, S., Perkins, M., Zhang, J., Roberts, C.J., Madden, C.E., Luk, S.Y., Patel, N., Ebbens, S.J.: Pharm. Res. 22. 1195–1202. (2005).
28. Chan, K.L.A., Kazarian, S.G., Vassou, D., Gionis, V., Chryssikos, G.D.: Vib. Spectrosc. 43. 221–226. (2007).

29. Chan, K.L.A., Kazarian, S.G.: *Vib. Spectrosc.* 42. 130–134. (2006).
30. Šašic, S.: *Anal. Chim. Acta* 611. 73–79. (2008).
31. Lewis, E.N., Carroll, J.E., Clarke, F.M.: *NIR News* 12. 16–18. (2001).
32. Šašic, S., Clark, D.A., Mitchell, J.C., Snowden, M.J.: *Analyst* 130. 1530–1536. (2005).
33. Lewis, E.N., Schoppelrei, J., Lee, E.: *Spectrosc. Mag.* 4. 26–36. (2004).
34. Koehler, F., Lee, E., Kidder, L., Lewis, N.: *Spectroscopy Eur.* 14. 12–19. (2002).
35. Vajna, B., Farkas, I., Szabó, A., Zsigmond, Z., Marosi, G.: Raman microscopic evaluation of technology dependent structural differences in tablets containing imipramine model drug, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, In Press
36. Šašic, S.: *Appl. Spectrosc.* 61. 239–250. (2007).
37. Baranska, M., Proniewicz, L.M.: *Vib. Spectrosc.* 48. 153–157. (2008).
38. Clark, D., Šašic, S.: *Cytometry* 69A. 815–824. (2006).
39. Šašic, S., Clark, D.A., Mitchell, J.C., Snowden, M.J.: *Analyst* 129. 1001–1007. (2004).
40. Zhang, L., Henson, M.J., Sekulic, S.S.: *Anal. Chim. Acta* 545. 262–278. (2005).
41. Šašic, S., Morimoto, M., Otsuka, M., Ozaki, Y.: *Vib. Spectrosc.* 37. 217–224. (2005).
42. Šašic, S., Clark, D.A., Mitchell, J.C., Snowden, M.J.: *Appl. Spectrosc.* 59. 630–638. (2005).
43. Widjaja, E., Kim, R., Seah, H.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 46. 274–281. (2008).
44. Bell, S.E.J., Beattie, J.R., McGarvey, J.J., Peters, K.L., Sirimuthu, N.M.S., Speers, S.J.: *J. Raman Spectrosc.* 35. 409–417. (2004).
45. Reich, G.: *Pharmind* 64. 870–874. (2002).
46. Chan, K.L.A., Kazarian, S.G.: *Vib. Spectrosc.* 35. 45–49. (2004).
47. Chan, K.L.A., Kazarian, S.G.: *J. Comb. Chem.* 7. 185–189. (2005).
48. Chan, K.L.A., Elkhider, N., Kazarian, S.G.: *Chem. Eng. Res. Des.* 83. 1303–1310. (2005).
49. Elkhider, N., Chan, K.L.A., Kazarian, S.G.: *J. Pharm. Sci.* 96. 351–360. (2007).
50. Roggo, Y., Jent, N., Edmond, A., Chalus, P., Ulmschneider, M.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 61. 100–110. (2005).
51. Roggo, Y., Edmond, A., Chalus, P., Ulmschneider, M.: *Anal. Chim. Acta* 535. 79–87. (2005).
52. Hammond, S.V., Clarke, F.C.: Near-infrared micro-spectroscopy, in: J.M. Chalmers, P.R. Griffiths (Eds.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, vol. 2, John Wiley & Sons, London, 2002, pp. 1405–1418.
53. Clarke, F.: *Vib. Spectrosc.* 34. 25–35. (2004).
54. Gendrin, C., Roggo, Y., Collet, C.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68. 376–385. (2008).
55. Li, W., Woldu, A., Kelly, R., McCool, J., Bruce, R., Rasmussen, H., Cunningham, J., Winstead, D.: *Int. J. Pharm.* 350. 369–373. (2008).
56. Hilden, L., Pommier, C.J., Badawy, S., Friedman, E.M.: *Int. J. Pharm.* 353. 283–290. (2008).
57. Shah, R.B., Tawakkul, M.A., Khan, M.A.: *J. Pharm. Sci.* 96. 1356–1365. (2007).
58. Ellison, C.D., Ennis, B.J., Hamad, M.L., Lyon, R.C.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 48. 1–7. (2008).
59. Shinzawa, H., Awa, K., Okumura, T., Morita, S., Otsuka, M., Ozaki, Y., Sato, H.: *Vibr. Spectr.* 51. 125–131. (2009).
60. Doub, W.H., Adams, W.P., Spencer, J.A., Buhse, L.F., Nelson, M.P., Treado, P.J.: *Pharm. Res.* 24. 934–945. (2007).
61. Balss, K.M., Long, F.H., Veselov, V., Orana, A., Akerman-Revis, E., Papandreou, G., Maryanoff, C.A.: *Anal. Chem.* 80. 4853–4859. (2008).
62. Belu, A., Mahoney, C., Wormuth, K.: *J. Control. Rel.* 126. 111–121. (2008).
63. Ringqvist, A., Taylor, L.S., Ekelund, K., Ragnarsson, G., Engström, S., Axelsson, A.: *Int. J. Pharm.* 267. 35–47. (2003).
64. Marosi, G., Patyi, G., Nagy, Z., Vajna, B., Szabó, A., Anna, P.: *Magyar Kémiai Folyóirat* 114. 137–140. (2008).
65. Kauffman, J.F., Dellibovi, M., Cunningham, C.R.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43. 39–48. (2007).
66. Lewis, E.N., Kidder, L.H., Lee, E.: *NIR News* 16. 2. (2005).
67. Malik, I., Poonacha, M., Moses, J., Lodder, R.A.: *AAPS PharmSciTech* 2. 1–7. (2001).
68. Hamilton, S.J., Lodder, R.A.: *Proc. SPIE* 4626. 136–147. (2002).
69. Hamilton, S.J., Lowell, A.E., Lodder, R.A.: *J. Biomed. Opt.* 7. 561–570. (2002).
70. Bu, D., Brown, C.W.: *Appl. Spectrosc.* 54. 1214–1221. (2000).

[Érkezett: 2009. szeptember 23.]

## Patkány myometrium termoanalitikai vizsgálata terhesség alatt

CSÍK GÁBOR<sup>1</sup>, PATZAI BALÁZS<sup>2</sup>, FALKAY GYÖRGY<sup>1</sup>, ZUPKÓ ISTVÁN<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, Szeged, Eötvös u. 6. – 6720

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Mozgásszervi Sebészeti Intézet Traumatológiai és Kézsebészeti Klinikai Tanszék, Pécs, Akác u. 1. – 7632

Levelező szerző: e-mail: zupko@pharm.u-szeged.hu

### Summary

Csík, G., Patzai, B., Falkay, Gy., Zupkó, I.: *Thermoanalytical investigation of rat myometrium during gestation*

The aim of our present study was the investigation of rat myometrium by means of differential scanning calorimetry as a function of gestational age. Some additional groups of animals were exposed to adjuvant arthritis as a model for generalized inflammation. In order to find a connection between calorimetrically determined parameters and motor activity isolated organ experiments were performed and spontaneous as well as KCl-stimulated contractility were recorded. Uterine rings from the 5<sup>th</sup> day of early pregnancy (days 3-6) exhibited a maximum motor activity. A close correlation was revealed between calorimetric enthalpy ( $\Delta H$  value) and basal and stimulated contractility. The generalized inflammation increased the maximal contractions at all tested stages (non pregnant, days 14 and 21). As gestation progressed  $\Delta H$  value increased in control rats but not in animals exposed to inflammation. Our results indicate that calorimetric technique is suitable for functional investigation of pregnancy-induced or disease-related changes of myometrial samples.

### Összefoglalás

Munkánk célja a patkány myometrium kalorimetriás (differenciál pásztázó kalorimetria) vizsgálata a gesztációs kor függvényében. Az állatok egy részénél a generalizált gyulladás modelljeként adjuváns arthritist váltottunk ki. A kalorimetriásan meghatározott paraméterek és a mechanikus aktivitás közötti összefüggés feltárására minden kondícióban izolált körülmények között regisztráltuk a kimetszett uterusgyűrűk spontán és káliummal stimulált motor-aktivitását. Azt találtuk, hogy korai terhességben (3-6 nap) a patkány myometriuma kontraktilitási maximumot mutat az 5. gesztációs napon. Ebben a periódusban szoros korrelációt tártunk fel a spontán és stimulált kontraktilitás, valamint a kalorimetriás entalpia ( $\Delta H$ ) között. A generalizált gyulladás minden időpontban (nem terhes, 14 és 21 napos korban) jelentősen fokozta a maximális mechanikai választ. Ebben a periódusban kontroll állatokban a terhesség progressziójával fokozódott a  $\Delta H$  értéke, gyulladás jelenlétében ez a fokozódás nem jött létre. Eredményeink rámutatnak arra, hogy az alkalmazott kalorimetriás technika alkalmas a myometrium terhesség ill. patológiás állapot által előidézett funkcionális változásainak jellemzésére, továbbá kiegészíti a rutinszerűen alkalmazott funkcionális módszereket.

### Bevezetés

Kétségtelen, hogy az emlős szervezetben a gesztáció során az uterust érintik a legmélyrehatóbb változások. Az izomtömeg megtöbbszöröződésén túl strukturális fejlődések egész sora következik be, így degenerálódik a méh innervációja, megszáporodnak a szorosabb sejt-sejt kommunikációt lehetővé tevő kapcsolatok, és szinte az összes myometriális receptor denzitása és affinitása is jellegzetesen változik a terhesség alatt [1]. Kézenfekvő, hogy mindezek a változások egyrészt az uterus terhesség alatti nyugalma, ezáltal a fejlődő magzat biztonságát, másrészt a szüléshez szükséges összehangolt kontrakciók előkészítését szolgálják.

Jelen vizsgálatsorozat célja a terhesség során a myometriumra jellemző élettani változások termoanalitikai megközelítése. Az uterus kontraktilitásának szabályozásában egyre nagyobb szerepet tulajdonítanak a gyulladásos mediátoroknak,

így vizsgálatainkat kiterjesztettük a rheumatoid arthritis állatkísérletes modelljeként számon tartott adjuváns arthritissel komplikált terhességre is. Hogy kapcsolatot találjunk az egyes minták kalorimetriásan mért paraméterei és a szövet kontraktilitása között, minden esetben regisztráltuk izolált szervi körülmények között a minták spontán és káliummal stimulált mechanikus aktivitását.

A termoanalitikai módszerekkel főleg tiszta anyagok legkülönbözőbb tulajdonságainak a hőmérséklet-emelés során bekövetkező változásait regisztrálhatjuk. A minta tömegét a hozzá tartozó hőmérsékleti görbékkel együtt ábrázolva kapjuk a minta termogravimetriás (TG) görbét, melyből kitűnik, hogy a vizsgált anyag milyen hőmérséklet-tartományban tömegállandó, ill. milyen hőmérsékleten következnek be tömegváltozással járó fizikai vagy kémiai folyamatok.

Minden entalpiaváltozással járó folyamat – akkor is, ha az nem jár az anyag tömegének változá-



sával – követhető a differenciál termikus analízis (DTA) és a differenciál pásztázó kalorimetria (DSC) segítségével. Ez utóbbi két eljárás közös jellemzője, hogy referenciaanyaggal szembeni mérésen alapuló módszerek, vagyis a mintát és egy inert referenciaanyagot ugyanazon kemencében egyidejűleg hevítettünk. A DTA mérési módszer a hőmérsékletek különbségének, míg a DSC vizsgálat a hőkapacitás változások mérésén alapul. A vizsgálatokhoz általában csupán kis mennyiségű mintára és rövid vizsgálati időre van szükség.

A DSC mérések során a termikus hatások megjelenése a görbék tipikus lefutását eredményezi. Az ábrázolás tekintetében nincs egységes elvárás az endoterm, ill. exoterm folyamatok ábrázolási irányára, legtöbbször az alkalmazott készüléktől függ, ezért az ábrákon fel szokás tüntetni legalább az egyik, pl. az exoterm jelenségek megjelenítési irányát.

A kristályos anyagok tipikus DSC görbéjén egy termikus változás nélküli szakasz után jelenik meg a kristályos anyagokra jellemző olvadáspont, egy éles endoterm csúcs, melyet a megolvadás után általában szintén egy termikus változás nélküli görbeszakasz (alapvonal) követ.

Az olvadásponton kívül más paraméterekkel is lehet jellemezni a kristályos anyagokat, ugyanis az olvadás endoterm (hőelnyelő) folyamat, vagyis entalpiaváltozással jár, ennek jele a  $\Delta H$ . Az olvadás közben mérhető entalpiaváltozás számszerűen megfelel az olvadáspontban kapott DSC csúcs (peak,  $T_m$  érték) és az alapvonal által bezárt területnek. Numerikus értéke függ a bemért tömeg nagyságától, így összehasonlíthatóság szempontjából az egységnyi tömegről vonatkoztatott értéke, a normalizált entalpiaváltozás jobban használható, melynek mértékegysége a J/g.

A termikus vizsgálatokkal kémiaiilag tiszta anyagok (hatóanyagok, segédanyagok) viselkedése is jól nyomon követhető [2, 3]. A klasszikus kristályos anyagok esetében az olvadási tulajdonságok meghatározása mellett a mérés technika alkalmas még többek között a kristályossági fok nyomon követésére, a polimorf átalakulások igazolására vagy kizárására, kompatibilitási vizsgálatok elvégzésére vagy eutektikum-képződés nyomon követésére [4-8], sőt polimer jellegű anyagok vizsgálatára is [9, 10].

DSC vizsgálatot kezdetben elsősorban egy-egy anyag termikus viselkedésének leírására használtak, de később kiterjesztették anyagkeverékek, majd összetett rendszerek, gyógyszerformák vizsgálatára is [11].

A kalorimetriai mérések a fentieken kívül további olyan területeken is jól felhasználhatók, mint pl. a növényi és állati eredetű anyagok vizsgálata, sőt különböző humán biológiai minták tanulmányozására is alkalmasak lehetnek [12, 13].

A kalorimetrián belül az utóbbi években alakult ki az a kutatási irány, ami állati vagy humán eredetű szövetminták termikus paramétereit vizsgálja különféle kórállapotok függvényében. Eltérő helyekről származó (térd, csípő, gerinc) humán degeneratív porcminák termoanalitikai módszerekkel (TG, DSC) való összehasonlító vizsgálata során különbségek állapíthatók meg az egészséges és kóros minták víztartalma, annak eltávolításához szükséges energia és a folyadék kötődési erőssége között [14-16]. A módszer alkalmazhatóságát igazoló közlemények láttak napvilágot vázizommal [17, 18], nyelőcsővel kapcsolatban [19, 20], humán ligamentumok esetén [21, 22], valamint a humán zsírszövet termikus paramétereiben a patológiás elváltozások mellett egyes hatóanyagok (alkohol, szteroidok) toxikus hatásai is megmutatkoznak [23-25].

## Anyag és módszerek

### Kísérleti állatok

Kísérleteinkhez 200-250 g-os, nőtény Sprague-Dawley patkányokat használtunk. A megtermékenyülést a festetlen vaginális kenetben, spermium detektálásával bizonyítottuk. A megtermékenyülés napját tekintettük a terhesség első napjának. Minden vegyszert – ha másképp nem jelöltük – a Sigma-Aldrich Kft.-től rendeltünk (Budapest). Minden kísérleti protokoll megfelelt az állatkísérleti etikai normáknak, az elvégzésükhöz szükséges engedélyekkel rendelkezünk.

Az állatok egy részén adjuváns arthritist (AA) váltottunk ki, amivel a generalizálódott gyulladást kívántuk modellezni. Az AA mutatja a humán rheumatoid arthritis legjellemzőbb vonásait – a valamennyi ízületre kiterjedő, deformításokat okozó és progrediáló gyulladást – így mára általánosan elfogadottá vált, mint a kórkép állatkísérletes modellje. Az ízületi gyulladást folyékony paraffinban szuszpendált, elölt *Mycobacterium butyricum* (Becton Dickinson, Budapest) szubplantáris injekálásával váltjuk ki, a szuszpenzió koncentrációja 5 mg/ml volt, melyből az állatok 0,1 ml-t kaptak jobb hátsó lábuk 3. és 4. ujjai közé. Az injekált láb gyulladása, a primer reakció 3-5 nap alatt alakul ki, míg a generalizált – a többi végta-



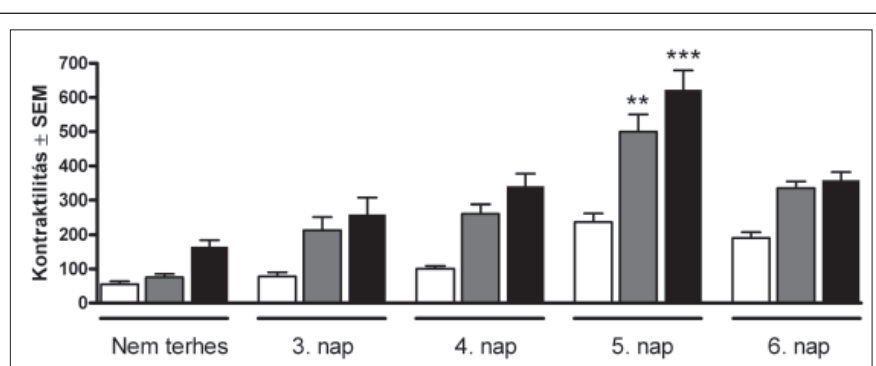
got érintő – reakció 10-12 nap alatt jelenik meg. A terhes állatokat a gesztáció 1. napján kezeltük *M. butyricum* szuszpenzióval, majd a 14. ill. a 21. napon vontuk a kísérletbe, ezek a napok a 2. harmadot, ill. a terminust reprezentálják. A nem terhes állatok szövetmintáin legalább 10 nappal a gyulladás kiváltása után végeztük a méréseket.

#### Kalorimetriás vizsgálatok

A különböző gesztációs korú (nem terhes, 3-6, 14 és 21 napos) és állapotú (intakt és AA-exponált) állatok uterusmintáit a termoanalitikai mérésig  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A termikus denaturációt SETARAM Micro DSC-II kaloriméterrel határoztuk meg, ahol a mérési tartomány  $0\text{--}100\text{ }^{\circ}\text{C}$  volt,  $0,3\text{ K/min}$  felfűtési sebességet alkalmazva. Hagyományos Hastelloy batch mérőcellákat használtunk a hődenaturációs kísérletekben. A minta és referencia cellák tömegét  $\pm 0,1\text{ mg}$  pontossággal táráztuk ki és így a minta valamint referencia edények közötti esetleges hőkapacitás-különbség korrigálására nem volt szükség. Az adatok grafikus feldolgozása ASCII konverzió után OriginPro 7.5 program segítségével történt. A mérésekhez minden kondícióból 4 mintát használtunk, melyek statisztikai értékelését GraphPad Prism 4 program segítségével (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) ANOVA-Dunnett-teszttel végeztük.

#### Izolált szervi vizsgálatok

A fentiekkel megegyező kísérleti elrendezés szerint az állatokat  $\text{CO}_2$  kamrában túlaltattuk. Az uterusból kimetszett gyűrűket vertikálisan  $10\text{ ml}$  de Jongh puffert tartalmazó szervfürdőben erőmrőhöz rögzítettük. A puffer összetétele a következő:  $137\text{ mM NaCl}$ ,  $3\text{ mM KCl}$ ,  $1\text{ mM CaCl}_2$ ,  $1\text{ mM MgCl}_2$ ,  $12\text{ mM NaHCO}_3$ ,  $4\text{ mM Na}_2\text{HPO}_4$  és  $6\text{ mM}$  glükóz, pH: 7,4. A szervfürdőt  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartottuk, a puffert karbogénnel oxigenizáltuk, a szövetmintákat  $1,5\text{-g}$  előfeszítés mellett  $90\text{ percig}$  ekvibráltuk. A kontrakciókat Isosys Data Acquisition System (Experimetria, Budapest) segítségével rögzítettük és értékeltük. A spontán kontraktilis tevékenység rögzítése után  $25\text{ mM KCl}$  hozzáadásával stimuláltuk a motoros aktivitást, majd  $70\text{ mM KCl}$



1. ábra: Patkány uterus spontán (□), stimulált (▒) és maximális (■) kontraktilitása relatív egységben a terhességi idő függvényében. \*\* ill. \*\*\*:  $p < 0,01$  ill.  $p < 0,001$  a nem terhes állapothoz viszonyítva

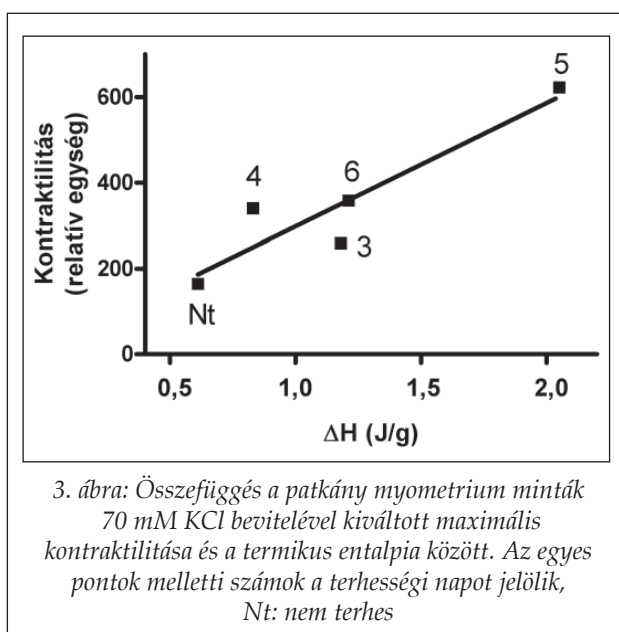
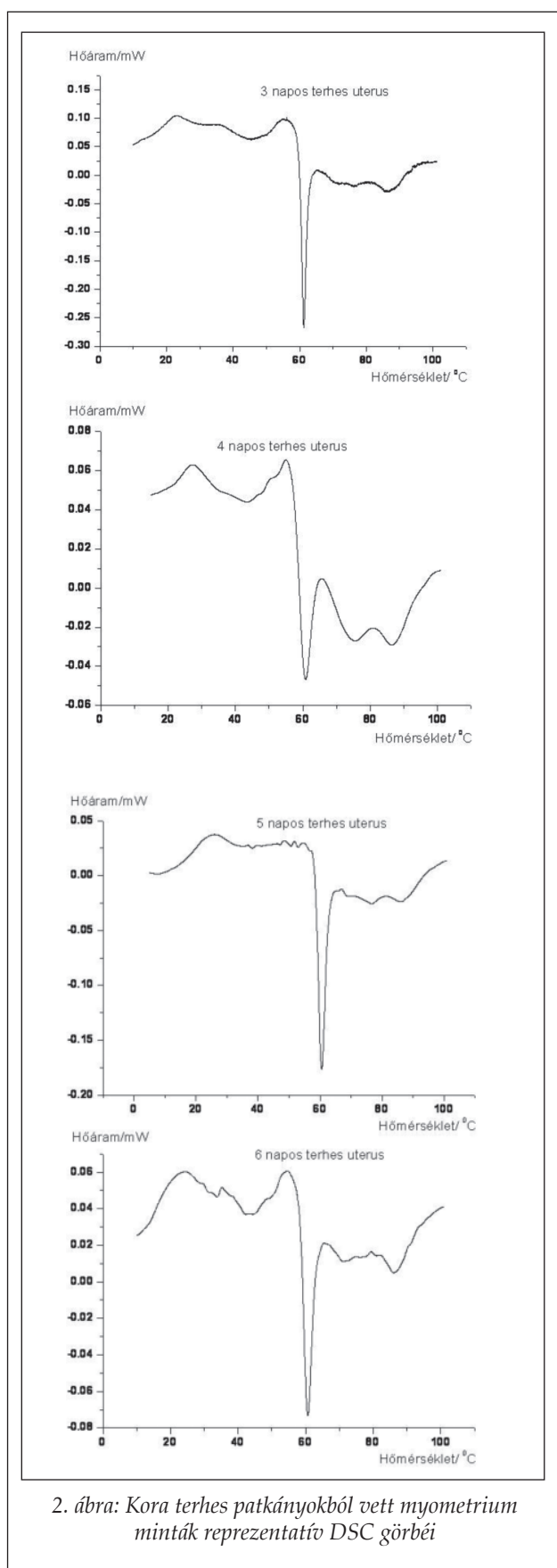
bevitelével meghatároztuk a minta maximális tónusát. Minden állapotból legalább 5 percnyi szakaszt rögzítettünk, a regisztrátum kiértékelt paramétere az ehhez a szakaszhoz tartozó görbe alatti terület volt, amit relatív egységekben adtunk meg. A bemutatott eredmények minimum 5 mérés átlagát tartalmazzák; a statisztikai értékeléshez ANOVA-Newman-Keuls tesztet használtunk.

#### Eredmények

Kora terhességben (3-6 napokon) az uterusgyűrűk spontán kontraktilitásban nem találtunk szignifikáns eltéréseket. A stimulált ( $25\text{ mM KCl}$ ) és a maximális ( $70\text{ mM KCl}$ ) kontraktilitásban jellegzetes időfüggés mutatkozott, az izomerő mindét esetben az 5. napon érte el maximumát (1. ábra).

Ugyanezen gesztációs időkben az értékelt termikus paraméterek közül csak a kalorimetriás entalpia ( $\Delta H$ ) mutatott markáns eltéréseket; a  $T_m$  értékek minden esetben  $60,0$  és  $61,25\text{ }^{\circ}\text{C}$  között voltak (2. ábra). A minták izolált szervi körülmények között meghatározott kontraktilitása és a kalorimetriás entalpia értékek között szoros korrelációt találtunk, ami teljesült mind a spontán ( $r^2: 0,7487$ ), mind pedig a  $\text{KCl}$  bevitelével stimulált ( $r^2: 0,8463$ ), ill. a maximális izomaktivitásra ( $r^2: 0,8514$ ; 3. ábra).

A későbbi gesztációs időpontokra – a 14. és 21. napra – vonatkozó kontraktilitási és termikus vizsgálatainkat kiegészítettük olyan állatokból izolált mintákkal, melyeken előlt *M. butyricum* szubkután injekálásával szisztémás gyulladást idéztünk elő. Az adjuváns arthritis korai terhességi napokon (3-6 nap) kifejtett myometriális hatásai nem vizsgálhatók, mivel a generalizált gyulladás kialakulásához legalább 10 napra van szükség, ugyanakkor a kezelt állatok esetében a fogamzás igen alacsony hatásfokú. Azt találtuk, hogy a



gyulladás egyik állapotban sem befolyásolja jelentősen a spontán aktivitást, és a káliummal stimulált kontrakciók is csak a nem terhes állapotban fokozódtak. Ugyanakkor a 70 mM KCl által kiváltott maximális mechanikus tevékenység szignifikáns mértékben emelkedett mindhárom gesztációs kondícióban (4. ábra).

Nem terhes állatok esetében a generalizált gyulladás nem okozott jelentős eltérést a minták termikus viselkedésében. Terhes állatból származó mintákon ugyanakkor az arthritis jelentős mértékben csökkentette a kalorimetriás entalpiát, különösen a terminusban (I. táblázat, 5. ábra). A nem terhes állathoz viszonyítva a terhesség – kontroll és AA-exponált állatokban egyaránt – csökkentette a  $T_m$  értéket. A szövetmintára vonatkozó kalorimetriás entalpia kontroll állatokban növekedett, míg arthritises állatokban csökkent a terhesség hatására. A termoanalitikai és a kontraktilitási adatok összevetéséből az körvonalazódik, hogy a kontroll állatok mintái esetében a  $\Delta H$  értéke párhuzamosan változik a szövet mechanikus aktivitásával, ám a három adatpár (nem terhes, 14 és 21 napos uterus) nem elégséges egy szoros korreláció megállapításához. Adjuváns arthritisnek kitett állatokban ugyanakkor ilyen trend nem volt megfigyelhető.

### Megbeszélés

A koraszülés a terhességek 7%-ában fordul elő, ám a neonatális mortalitás mintegy 75%-áért tehető fe-

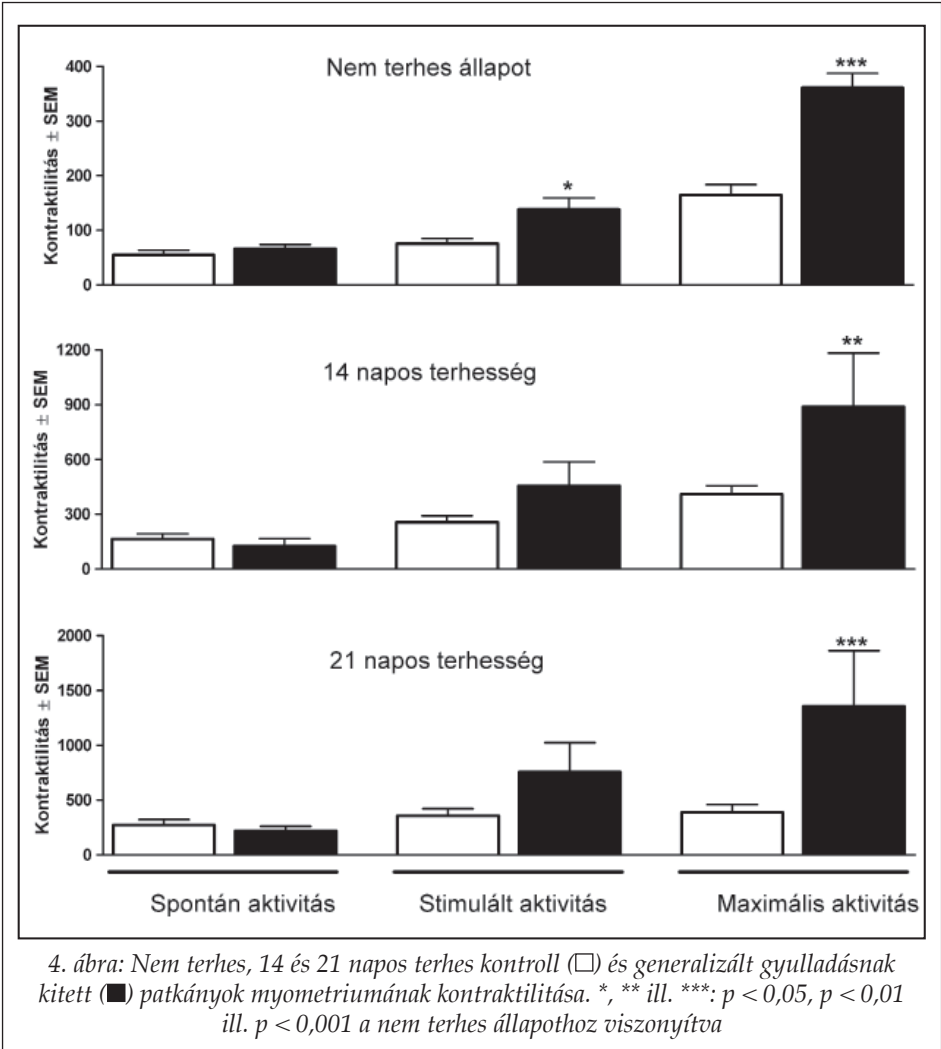
lelőssé és az ehhez kapcsolódó morbiditás is igen jelentős [26]. A korai kontrakciók pontos patomechanizmusa máig tisztázatlan, ám az esetek legalább harmadában szerepet játszik a genitális trak-

tus gyulladása. Mivel az ilyen gyulladások egy része tünetmentes, igen nehéz megállapítani a gyulladásos mediátorok koraszülésben játszott szerepét. Ez egyben azt is jelenti, hogy minden myometriális

motilitásra vonatkozó kísérletes adat közelebb hozhatja a koraszülés kezelésének ill. megelőzésének lehetőségét.

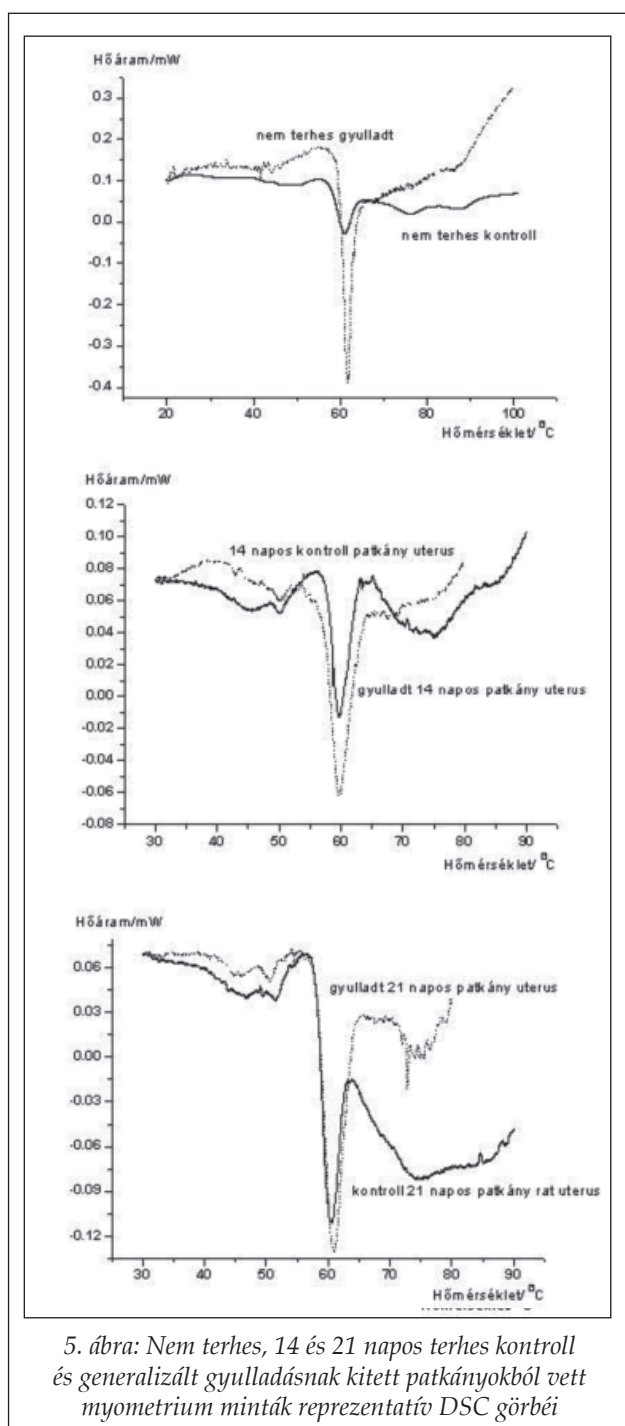
Nem terhes és kora terhes (3-6 nap) állatok uterusmintáira vonatkozó kontraktilitási eredményeinkből kitűnik, hogy a vizsgált periódusban az 5 napos uterus mutatja a legnagyobb mechanikus aktivitást. Ennek oka nem ismert, ám figyelemre méltó, hogy a patkány 22 napos gesztációja során az 5. napon történik a beágyazódás. Úgy tűnik tehát, hogy az észlelt fokozott kontraktilitás szerepet játszik a zigóta genitális traktuson belüli transzportjában.

Meglepően szoros korrelációt találtunk a korai minták kontraktilitási értékei és a kalorimetriás entalpia között. Ezek alapján úgy véljük, hogy a termoanalitikai megközelítés alkalmas a myo-



I. táblázat  
A gesztációs kor és az adjuváns arthritis (AA) hatása a patkány myometrium termoanalitikai paramétereire.  
# és ##:  $p < 0,05$  és  $p < 0,01$  a nem terhes állapothoz viszonyítva;  
\* és \*\*\*:  $p < 0,05$  és  $p < 0,001$  a kontrollhoz viszonyítva

	Nem terhes kontroll	Nem terhes AA
$T_m / ^\circ\text{C}$	$61,0 \pm 0,26$	$61,07 \pm 0,41$
$\Delta H / \text{Jg}^{-1}$	$2,43 \pm 0,27$	$2,85 \pm 0,28$
	14 napos kontroll	14 napos AA
$T_m / ^\circ\text{C}$	$59,17 \pm 0,26$ # #	$59,93 \pm 0,37$ # #, *
$\Delta H / \text{Jg}^{-1}$	$2,66 \pm 0,26$	$2,13 \pm 0,22$ # #, *
	21 napos kontroll	21 napos AA
$T_m / ^\circ\text{C}$	$60,44 \pm 0,27$ #	$60,35 \pm 0,31$ #
$\Delta H / \text{Jg}^{-1}$	$3,54 \pm 0,25$ # #	$2,36 \pm 0,24$ #, ***



metriális simaizom funkcionális jellemzésére. Míg az általában alkalmazott funkcionális vizsgálómódszerek (pl. spontán vagy kiváltott kontrakciók regisztrálása, szuperfúziós technika) friss szövetpreparátumot igényelnek, addig a kalorimetriás mérések történhetnek fagyasztva ( $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on) tárolt mintákból.

A késői – 14 és 21 napos – uterusmintákon mért adatok ugyanakkor nem illeszthetők a tapasztalt

korrelációba. Feltételezzük, hogy ekkorra a fejlődő magzatok olyan folyamatos falfeszülést fejtenek ki az uterusban, aminek hatására a myometrium spontán és stimulált kontraktilitása jelentősen nagyobb lesz, „felülírva” ezzel a korai gesztációban kimért összefüggést. Ezekben az esetekben az uterusgyűrűk kontraktilitása jelentős mértékben függött a gesztációs kortól és a kiváltott generalizált gyulladástól (1. ábra). Azt találtuk, hogy a terhesség előrehaladtával mind a spontán, mind pedig a KCl-lal stimulált aktivitás fokozódik. Az arthritis minden esetben fokozta a KCl-lal előidézett kontrakciókat, de nem befolyásolta a bazális izomtevékenységet.

Korábbi vizsgálati eredmények szerint kísérletes colitis és cystitis csökkentik a patkány uterus kontraktilitását, ill. az oxitocin uterotonikus hatását [27, 28]. Ezek az adatok ugyanakkor akut gyulladásmodell alkalmazásával keletkeztek, így nem állnak ellentmondásban az általunk használt krónikus arthritis kiváltása után kapott eredményekkel.

Kísérleti elrendezésünkben a nem terhes kontroll uterus két meghatározó behatás érte: gesztáció és generalizált gyulladás. A myometriális motor aktivitás és a kalorimetriás viselkedés közötti kapcsolat feltárása – természetesen – meghaladja jelen vizsgálatsorozat kereteit. Az uteruson belül számtalan élettani paraméter változik markánsan a gesztáció alatt, így egyes receptorok denzitása, transzmitterek és növekedési faktorok koncentrációja, ám ezek kevésbé valószínű okai a terhesség progressziójával észlelt nagyobb kalorimetriás entalpiának. Az entalpia gesztáció alatti fokozódása egybevág egy korábbi, igen kisszámú és heterogén humán myometrium mintát feldolgozó vizsgálat eredményével [29]. A szülésre felkészülő uterusban megemelkedik az izomsejtek közvetlen citoplazmatikus kapcsolatát lehetővé tevő rés-sejtkapcsolódások (gap junction) gyakorisága [1]. Ezek keresztül kicserélődhetnek kisebb molekulák, ionok, így az excitáció myometriumon belüli terjedésében is minden bizonnyal meghatározó szerepet játszanak. Ezek alapján úgy véljük, a nagyobb gap junction denzitást mutató szövet koherensebb, ami fizikai tulajdonságaiban, így termikus paramétereiben is megmutatkozik.

Eredményeink rámutatnak, hogy az alkalmazott kalorimetriás technika alkalmas a myometrium terhesség ill. patológiás állapot (modellünkben krónikus gyulladás) által előidézett funkcionális változásainak jellemzésére, ill. kiegészíti a rutinszerűen alkalmazott metódusokat.



### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki *prof. dr. Lőrinczy Dénesnek* (Pécsi Tudományegyetem, ÁOK Biofizikai Intézet) a termoanalitikai mérések elvégzéséhez nyújtott segítségével.

### IRODALOM

- Garfield, R.E., Rabideau, S., Challis, J.R., Daniel, E.E.: *Am. J. Obstet. Gynecol.* 133. 308-315, (1979).
- Gombás, Á., Szabó-Révész, P., Regdon jr., G., Erős, I.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 73. 615-621, (2003).
- Szűts, A., Pallagi, E., Regdon jr., G., Aigner, Z., Szabó-Révész, P.: *Int. J. Pharm.* 336. 199-207, (2007).
- Beretzky, Á., Kása, P., Pintye-Hódi, K., Bajdik, J., Szabó-Révész, P., Erős, I.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 69. 529-539, (2002).
- Gombás, Á., Szabó-Révész, P., Kata, M., Regdon jr., G., Erős, I.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 68. 503-510, (2002).
- Hou, Y., Gu, Y., Zhang, S., Yang, F., Ding, H., Shan, Y.: *J. Mol. Liq.* 143. 154-159, (2008).
- Kiss, D., Zelkó, R., Novák, C., Éhen, Z.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 84. 447-451, (2006).
- Shah, B., Kakumanu, V.K., Bansal, A.K.: *J. Pharm. Sci.* 95. 1641-1665, (2006).
- Pereczes, J., Zelkó, R.: *Gyógyszerészet* 44. 403-406, (2000).
- Regdon jr., G., Kósa, A., Erős, I., Pintye-Hódi, K.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 89. 793-797, (2007).
- Hekmatara, T., Regdon jr., G., Sipos, P., Erős, I., Pintye-Hódi, K.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 86. 287-290, (2006).
- Lőrinczy, D., Regdon jr., G., Keller, B., Szakály, S., Schäffer, B.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 88. 351-354, (2007).
- Zhang, L., Zhao, X., Ji, J., Dai, Y.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 917-922, (2009).
- Aigner, Z., Mécs, L., Sohár, G., Wellinger, K., Szabó-Révész, P., Tóth, K.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 801-804, (2009).
- Csotye, J., Aigner, Z., Sohár, G., Szabó-Révész, P., Tóth, K.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 805-808, (2009).
- Szántó, Z., Benkő, L., Gasz, B., Jancsó, G., Róth, E., Lőrinczy, D.: *Thermochim. Acta* 417. 171-174, (2004).
- Gazsó, I., Kráncz, J., Bellyei, Á., Lőrinczy, D.: *Thermochim. Acta* 402. 117-122, (2003).
- Szabó, I., Bognár, G., Kereskai, L., Szász, K., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 88. 343-349, (2007).
- Benkő, L., Danis, J., Czompo, M., Hubmann, R., Ferencz, A., Jancsó, G., Szántó, Z., Zólyomi, A., Könczöl, F., Bellyei, Á., Róth, E., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 83. 715-720, (2006).
- Benkő, L., Danis, J., Hubmann, R., Kasza, G., Gömöri, É., Róth, E., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 763-768, (2009).
- Wiegand, N., Várhidy, L., Patczai, B., Dömse, E., Than, P., Kereskai, L., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 797-800, (2009).
- Wiegand, N., Várhidy, L., Patczai, B., Dömse, E., Than, P., Kereskai, L., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 793-796, (2009).
- Bognár, G., Pintér, C., Horváth, B., Sydo, T., Ligeti, E., Pulai, J., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 769-774, (2009).
- Pintér, C., Bognár, G., Horváth, B., Sydo, T., Ligeti, E., Pulai, J., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 781-785, (2009).
- Pintér, C., Bognár, G., Horváth, B., Sydo, T., Ligeti, E., Pulai, J., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 95. 787-792, (2009).
- Klebanoff, M., Searle, K.: *BJOG.* 113. Suppl 3. 43-45, (2006).
- Dmitrieva, N., Johnson, O.L., Berkley, K.J.: *Neurosci. Lett.* 313. 49-52, (2001).
- Houdeau, E., Larauche, M., Monnerie, R., Bueno, L., Fioramonti, J.: *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288. R630-637, (2005).
- Wilhelm, F., Kovács, K.A., Vértes, Z., Lőrinczy, D.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 89. 863-865, (2007).

[Érkezett: 2009. július 26.]

## Hatóanyagok oldódásának elősegítése extrúziós technológiával

PATYI GERGŐ<sup>1,3</sup>, MAROSI GYÖRGY<sup>1</sup>, ANTAL ISTVÁN<sup>2</sup>, BÓDIS ATTILA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, Budafoki út 8. – 1111

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészeti Intézet, Budapest, H. ögyes Endre utca 9. – 1092

<sup>3</sup>Richter Gedeon NyRt., Gyógyszertechnológiai Osztály, Budapest, Gyömrői út 19-21. – 1103

Levelező szerző: gpatyi@oct.bme.hu

### Summary

Patyi, G., Marosi, Gy., Antal, I., Bódis, A.:  
**Solubility enhancement with extrusion technology**

The transformation of the stable crystalline form can enhance the bioavailability of poorly water soluble drugs. The molecular dispersion, or solid solution, can be formed by various methods. The thermodynamic and kinetic properties of such compounds are very similar to the amorphous state. Twin-screw melt-extrusion, with controlled pressure, heat and shear stress, is a powerful way for separating the molecules of the active ingredient from each other and distributing them in the matrix homogeneously. The extrudate can be processed onward immediately after a required cooling phase. The dependence of the possible effect of extrusion on the process parameters was investigated by Raman-microscopy and X-ray powder diffraction in course of the preparation of solid solution of spironolactone.

**Keywords:** melt extrusion, solid dispersion, spironolactone inclusion complex, Raman spectroscopy

### Összefoglaló

Vízben rosszul oldódó hatóanyagok esetén a kristályos állapot megszüntetése lehetőséget teremt a biohasznosíthatóság javítására. A készítményfejlesztés során különböző technológiai megoldásokkal az aktív vegyület molekuláris szintű eloszlása – szilárd oldat – érhető el. Ezeknek a rendszereknek termodinamikai és kinetikai viselkedése az amorf állapothoz áll közel. Az ikercsigás olvadék extrúzió során a lágyított polimerben a nyomás, hő és mechanikai hatás következtében a hatóanyag elemi részecskéi elkülönülnek egymástól, a mátrixban homogén eloszlás érhető el. A termék további feldolgozásra, szűrésre esetén egy hűtőzónát beiktatva, gyakorlatilag azonnal alkalmas. Az extrúzióval elérhető hatás paraméterfüggését – spironolakton példáján – Raman mikroszkóppal és porröntgen diffrakcióval követtük nyomon.

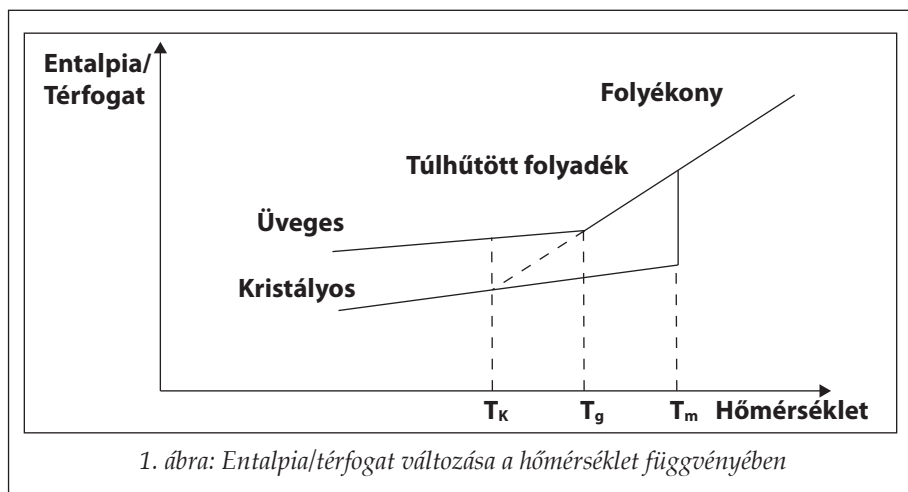
**Kulcsszavak:** olvadék extrúzió, szilárd oldat, spironolakton zárványkomplex, Raman-spektroszkópia

### Bevezető

A hatóanyagok amorf fizikai állapotának tartós „rögzítése” egyre fontosabb kihívásnak számít az originális és a generikus gyógyszerfejlesztésben egyaránt. Ennek egyik fő oka, hogy az újonnan szintetizált és biológiailag aktívnak talált vegyületek jelentős hányadának – kb. 40% – rossz a vízoldhatósága. A polimorf módosulatok számos egyéb eltérő fizikai tulajdonság (olvadáspont, kristályhabitus, hőkapacitás stb.) mellett, oldódási sebességükben is különböznek, a gyorsabb kioldódást azonban a hatóanyag amorfizálása biztosíthatja. Az üvegszerű amorf állapotban előállított vegyületek további feldolgozását fizikai illetve a kémiai instabilitás miatt általában nem tartják lehetségesnek, ezekben ugyanis hő, nedvesség vagy mechanikai hatásra megindul az átkristályosodás. A gyógyszer technológia eszközei között mégis találhatók olyan (a granulálás során, vagy azt megelőzően alkalmazott) megoldások, amelyek segítségé-

vel a stabil, kristályos állapot kialakulása tartósan elkerülhető.

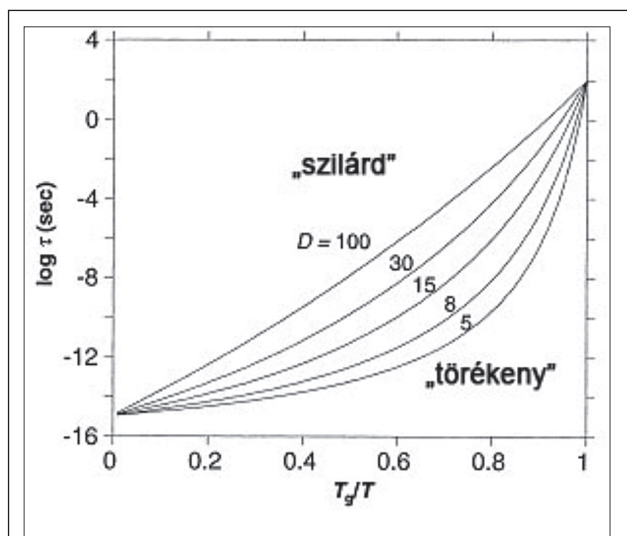
Amennyiben a hatóanyag molekulái egymástól elkülönülve, egyenletesen oszlanak el egy arra alkalmas, üvegszerű állapotban rögzített mátrixban, akkor szilárd oldat jön létre, amelyben a mozgékony korlátozott. Ehhez hasonló, a molekuláris diszperziót megközelítő hatóanyag-eloszlás előállítására oldószeres és oldószermentes lehetőségek egyaránt ismertek. Az előbbi módszer esetében kevés összetevőből álló, jól kontrollálható rendszerrel lehet dolgozni, de gazdaságossága és termelékenysége általában elmarad a második, oldószermentes, olvadékos eljárástól. Mindkét eljárás termelékenysége fokozására alkalmazható folytonos technológia, a műanyag- és élelmiszeriparban nagy hagyományokkal rendelkező extrúzió, melynek intenzív homogenizáló hatása eredményeként nagy diszperzítási fok érhető el, s a megfelelően megválasztott paraméterek alkalmazásával a hatóanyag amorfizálása is elérhető [1].



Annak érdekében, hogy érthetővé és tervezhetővé váljon a szilárd oldatok és finom diszperziók viselkedése a készítménygyártás lépései, valamint a tárolás során, érdemes áttekinteni az amorf rendszerek termodinamikáját és kinetikáját.

### Amorf állapot termodinamikai és kinetikai jellemzői

Amorf rendszerekben a molekuláknak a kristályos állapothoz viszonyítva – kisebb számú szekunder kölcsönhatásuk miatt – több lehetőségük van a mozgásra, ezért a fizikai és kémiai átalakulás lehetősége is nagyobb, mint amikor stabil kristályos módosulatban, erős másodlagos kötésekkel kapcsolódva, szorosan illeszkednek egymáshoz. Az üveges állapotra jellemző többlet belső szabad-energiát ( $\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$ ) a rendszert alkotó részecskék átkristályosodás útján adják le.



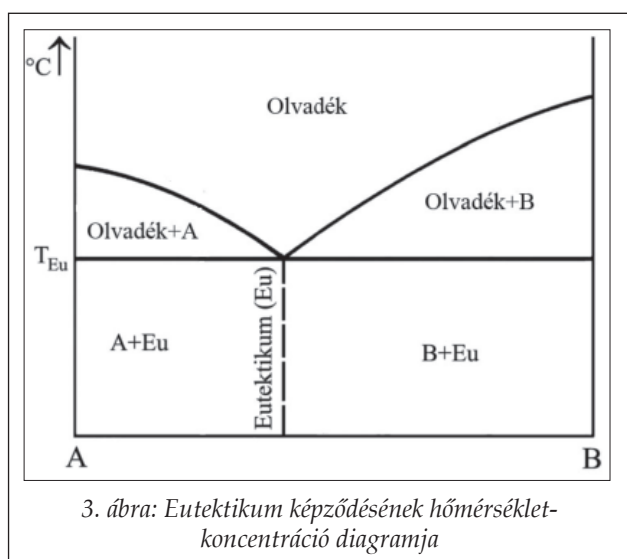
Termodinamikailag instabil, amorf vagy üveges állapotot gyakran nagy viszkozitású ( $>10^{12}$  Pa s) folyadéknak tekintik, amelyben molekulák mozgása gátolt és hiányoznak a kristályosságra jellemző erős, másodlagos kötőerők. Olvadék állapotból hűtve az anyagot, a stabil polimorf módosulat olvadáspontján ( $T_m$ ) – megfelelő körülmények között – megindul a kristályosodás. Azonban kellően gyors hű-

tés alkalmazása esetén, a kristályátalakulás elkerülhető és az anyag túlhűtött olvadék állapotba kerül, majd elérve az üveges átalakulási hőmérsékletet ( $T_g$ ), a molekulák mobilitása szinte teljesen megszűnik. A szerkezeti relaxációt (átmenet a feszültségmentes egyensúlyi állapotba) a molekuláris relaxációs idővel ( $\tau$ ) lehet jellemezni, amely a  $T_g$  alatt meghaladhatja a 100 másodpercet is. Azt a hipotetikus értéket, ahol a túlhűtött olvadék entalpiája eléri a kristályos állapotét Kauzmann pontnak ( $T_k$ ) nevezik (1. ábra). Ezt az értéket extrapoláció útján meghatározva az amorf módosulat eltarthatósága jobban tervezhető, mivel átkristályosodással ennél alacsonyabb hőmérsékleten gyakorlatilag nem kell számolni. E hőmérséklet közelítő becslésére az empirikus  $T_g - 50$ ,  $T_m / 2$  kifejezéseket szokták használni.

Vogel-Tammann-Fulcher (VTF) egyenlet (1) alapján  $\tau$  hőmérsékletfüggése kiszámítható és az így felállított görbéből a relaxációhoz szükséges aktiválási energia meghatározható.

$$\tau = \tau_0 \exp \left[ \frac{d \cdot T_0}{(T - T_0)} \right] \quad (1)$$

Az egyenletben szereplő  $T_0$  az a hőmérséklet, ahol a molekulamobilitás gyakorlatilag 0,  $\tau_0$  a referencia molekuláris relaxációs idő,  $d$  „szilárdsági” paraméter pedig a folyamat eltérést mutatja az Arrheniusi viselkedéstől (2. ábra). Ha  $d > 25$  akkor a relaxáció megközelítően az Arrhenius-egyenletnek megfelelően alakul (s a rendszer mozgékony-sága egyenletesen változik), míg  $d < 10$  esetén ettől jelentős eltérés mutatkozik (a rendszer az előbbi típusnál érzékenyebb). Az utóbbi csoportba tartoznak a szerves vegyületek, köztük a gyógyszer-molekulák is [2, 3, 4].



Mivel a hatóanyagmolekulák mozgékonyságának hőmérsékletfüggése csak molekulaszervezetük változtatásával lenne módosítható, az amorf stabilitást meghatározó relaxációs sajátságok tervezése a segédanyagok mozgékonyságának (az amorf hányad üvegesedési hőmérsékletének) és a hatóanyag-segédanyag kölcsönhatásának módosításával történhet.

### Szilárd oldat, molekuláris diszperzió

Gyenge vagy rossz vízoldékonyságú hatóanyagok felszívódását az amorfizálás mellett számos egyéb technológiai és kémiai megoldással lehet javítani (I. táblázat). A biohasznosulás javulása a Noyes-Whitney egyenlet (2) alapján például a szemcse-méret csökkentésével is elérhető:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{AD}{h} \left( c_s - \frac{X_d}{V} \right) \quad (2)$$

Az összefüggésben szereplő  $\frac{dX}{dt}$  az időegység alatt kioldott hatóanyag mennyisége,  $A$  a szemcse oldószerezrel érintkező aktív felülete,  $D$  a diffúziós állan-

dó,  $h$  a diffúziós rétegvastagság,  $c_s$  a hatóanyag telítési koncentrációja,  $V$  a kioldóközeg térfogata,  $X_d$  pedig a már oldatba került hatóanyag mennyisége. A legnagyobb fajlagos felület ( $A$ ) – azaz a diszperzitásfok maximuma – akkor érhető el, ha az aktív vegyület molekulái egyenletesen eloszlanak egy vízoldható polimer mátrixban, így annak feloldódása esetén a hatóanyag túltelített oldatát kapjuk.

A diszperzitásfok növelésének egyik lehetőségét az eutektikus keverékek előállítása jelenti, mikor két anyag egy meghatározott aránynál egyszerre kristályosodik ki (3. ábra). Amennyiben a keverék egyik eleme egy vízben rosszul oldódó hatóanyag, a másik egy vízzel jól elegyedő hordozó, akkor az utóbbi feloldódása után az előbbiből visszamaradó finom kristályok fajlagos felülete nagyobb, mint az önmagában kristályosított hatóanyagé, ezért az oldékonysága is gyorsabb lesz.

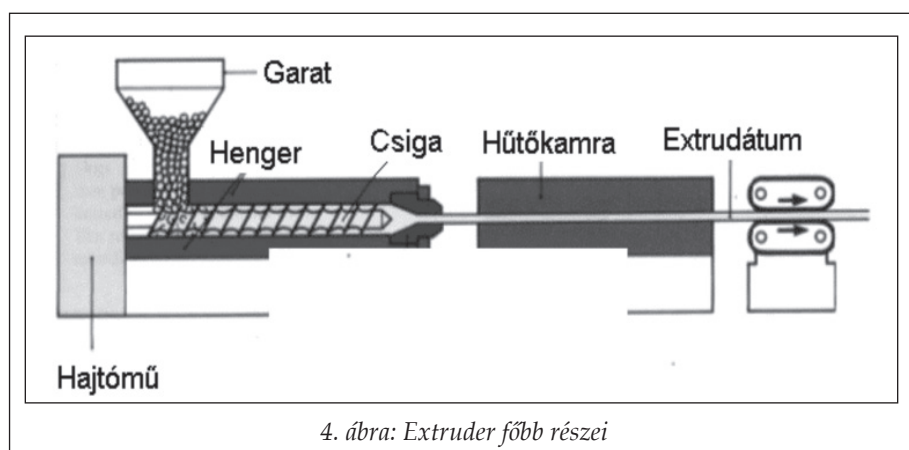
Amennyiben a polimer segédanyag és az aktív vegyület keveréke szilárd állapotban is homogén molekuláris diszperzióként tartható fenn, akkor szilárd oldat keletkezik. A hatóanyag fajlagos felülete ebben az esetben éri el a maximumot, így a hordozó oldódásának gyorsasága a sebességmeghatározó. A szilárd oldatok csoportosíthatók elegyíthetőségük szerint (folytonos, részleges) illetve az elosztatott molekulák beépülésének módja alapján. Az előbbi csoportosítás szerint folytonos a szilárd oldat, ha az anyagok egymással korlátlanul elegyednek, azaz a kölcsönhatás a polimer és a hatóanyag között erősebb, mint a hatóanyag molekuláit összetartó kötések, míg a részleges szilárd oldatokban a két vegyület elegyíthetősége koncentrációfüggő. A hatóanyag-molekulák eloszlásának módja szerint megkülönböztethető helyettesített, beékel vagy amorf szilárd oldat. Helyettesített kristályos szilárd oldat abban az esetben keletkezik, mikor az „oldódó” molekulák elfoglalják a segédanyag molekuláinak helyét kristályrácsban, a beékel kristályos szilárd oldatok esetében a segédanyag rendezett molekulái közötti térbe ágyazódnak be az elosztatott molekulák. Polimer mátrix és hatóanyag elegyítése során gyakran amorf szilárd oldat jön létre. Ilyen esetben a képződött

I. táblázat

A vízoldékonyságot javító technológiai és kémiai lehetőségek

Fizikai módosítás	Kémiai módosítás
Polimorf módosulat váltás, amorfizálás	Sóképzés
Fajlagos felület (diszperzitásfok) növelése	Vízoldható prodrug előállítása
Szilárd oldat előállítása, komplexképzés	





4. ábra: Extruder főbb részei

molekuláris diszperziót a hordozó üvegszerű állapota rögzíti. A technológiai gyakorlatban az esetek többségében a molekuláris diszperziót megközelítő finom, kolloid diszperziók kerülnek alkalmazásra, amelyek stabilizálása hasonlóan történik [1, 5].

#### Technológiai megoldások szilárd oldat előállítására

A hatóanyagok oldódásának elősegítésére szolgáló jól ismert eljárások a porlasztva és a fagyasztva szárítás [6, 7], amikor a mátrixképzőt és a hatóanyagot egy erre alkalmas oldószerben együtt feloldva, az oldószert olyan módon távolítják el, hogy a polimerláncok közt, molekulárisan diszpergált állapotba került hatóanyag átrendeződésére nincs lehetőség. Az eljárások előnye, hogy akár kétkomponensű rendszerekkel is megvalósítható [8, 9], valamint hogy a szemcseméret illetve a porozitás megválasztása (a gyártási paraméterek megfelelő megválasztásával) az oldékonyság szabályozását teszi lehetővé. A fagyasztva szárított (liofilezett) termékek gyakorlatilag nincsenek hőterhelésnek kitéve. E műveletek hátránya viszont a szakaszosság, a viszonylag kis termelékenység, a magas energiaköltségek, továbbá, hogy továbbfeldolgozás szilárd gyógyszerformává az alkalmazható korlátozott számú hatóanyag, oldószer esetén is számos nehézséget okoz. Az egyszerűbben megvalósítható porlasztva szárításos eljárások során viszont a hőre érzékeny aktív vegyületek hőbomlást szenvedhetnek, míg apoláris oldószerek esetén a maradványértékre kell fokozott figyelmet fordítani. E módszerek mellett alternatívát jelenthetnek az anyagszerkezet mélyreható befolyásolását lehetővé tevő folytonos extrúziós technológiák.

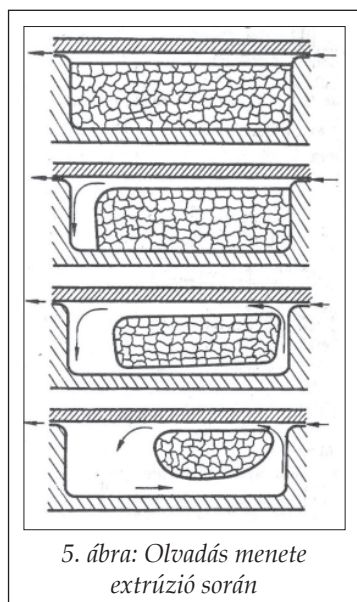
#### Az olvadék extrúzió technológiája

Az olvadék extrúzió célja általában nem csupán az anyag-továbbítás, hanem az olvadék létrehozása, majd a komponensek intenzív homogenizálása a viszonylag nagy viszkozitású közegben. Ennek megfelelően az olvadék extrúzió hőmérséklete az esetek többségében (de nem szükségszerűen) a szobahő-

mérsékletnél magasabb, az extrúderben intenzív nyíróerők ébrednek, valamint több tíz bar nyomás is fellép. Intenzív homogenizálás kétszigás (iker-szigás) extrúderekkel érhető el, amelyekben a csigák egy irányban (co-rotating), vagy (ritkábban) egymással szemben (counter rotating) forognak, s az öntisztulást az egymáshoz szorosan illeszkedő csigaszárnnyak biztosítják. A csigák szegmentált felépítésűek, geometriájuk a feldolgozandó keverék reológiai és hőtani jellemzői, valamint az elérendő cél függvényében változtatható. A paramétereknek ez a változatossága nagy szabadsági fokot biztosít az anyagszerkezet befolyásolására. A magas hőmérséklet alkalmazása nem minden esetben feltétele az olvadékextrúzióknak (sőt a technológia – megfelelő lágyító alkalmazásával – akár szobahőmérséklet alatt is megvalósítható), így a gyógyszer technológiai szakirodalomban széleskörűen elterjedt „hot melt extrusion” helyett a „melt extrusion” kifejezés használata lenne a helyes.

A 4. ábrán vázlatos ábrázolásban látható extrúder henger több fűtészónára van osztva, ezek hőmérsékletét a fűtő-hűtőrendszer szabályozza. A berendezés fő eleme, az elektromos motorral hajtott csiga, ill. csigák, amelyek geometriája jelentősen befolyásolja a nyomás felépülést, s meghatározza a homogenizálás mértékét is. A csigamagok átmérője illetve a csigák menetszárnnyainak emelkedése, formája is eltérő lehet, attól függően, hogy az extrúzió mely szakaszában, milyen funkciót látnak el. A fő funkciók alapján az olvadék extrúderben behúzó, kompressziós és kitoló/homogenizáló szakaszt lehet elkülöníteni.

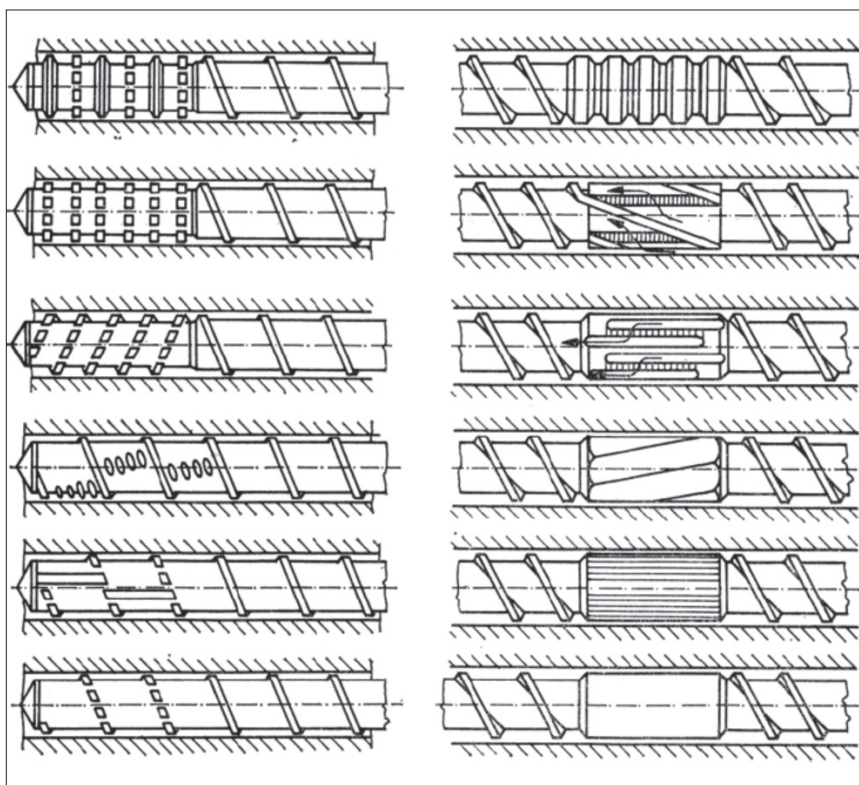
A behúzó szakaszban annál hatékonyabb az anyagszállítás, minél kisebb a csiga és az anyag közti súrlódás, és minél nagyobb a henger és az anyag közötti ébredő súrlódás. (Kétszigás extrúderben, ellentétes forgásirányú, azaz „szembefor-



gó” csigák esetén – ahol a menetszárnnyak benyúlnak a másik csiga menetárkaiba – az anyag továbbítása zárt térfogatban, kényszerszállítással történik, így ez esetben a súrlódási viszonyok szerepe kisebb.)

A kompressziós zónában történik a betáplált anyag megömlése, valamint a nyomásfelépülés, amely majd átjuttatja az ömledéket a szerszámon. Az olvadás a hengerfal felől indul meg, de a nyomás illetve csigaforgás következtében kialakuló cirkulációs áram felgyorsítja és egyenletessé teszi az olvadékképződést (5. ábra).

Az extrúzió során az anyag egyre kisebb térfogatra kényszerül, ezáltal megnő az olvadékra ható nyomás. A nyomásfelépülésben a csigageometriának szintén fontos szerepe van. Amennyiben a csi-



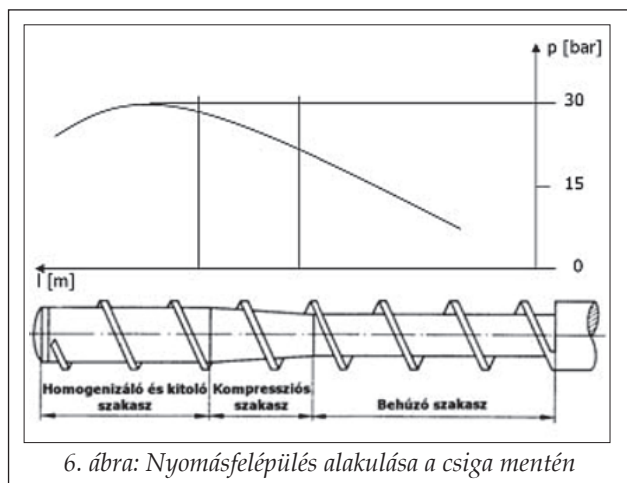
ga magja a változatlan méretű henger mentén, a 6. ábrán látható módon, kónikusan növekszik, akkor *magprogresszív* csigáról van szó, míg a *menetszárnnyedegresszív* csigák esetében a menetemelkedési szög csökken az extruder mentén.

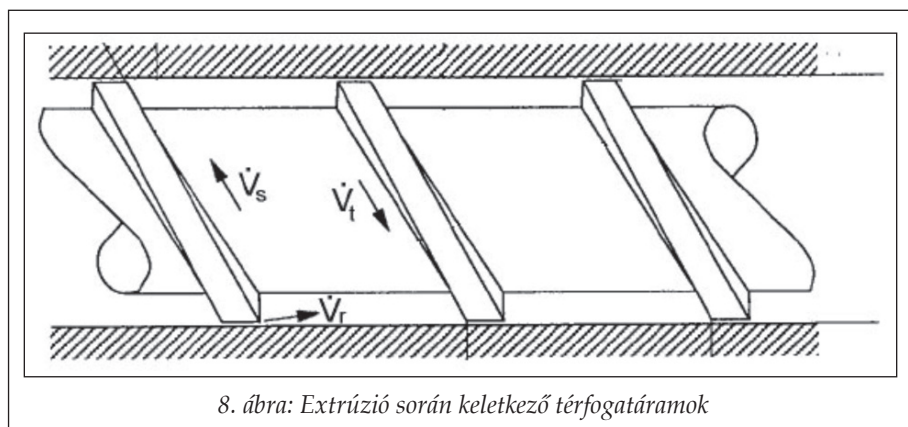
Az így kialakuló nyomás általában elegendő ahhoz, hogy a részecskék közé szorult levegő a garat felé távozzon. Amennyiben ez mégsem valósul meg, gáztalanító zónát kell kialakítani a csiga e célra szolgáló szakaszán, ahol a nyomás lecsökken és a fejlődő gáz elszívható.

Az extruderhenger mentén felépülő nyomás az utolsó, kitoló/homogenizáló szakaszban éri el a maximumát, amelynek mértéke függ a gáztalanítás fokától, az extrúziós paraméterektől valamint a szerszám ellenállásától.

A csigán illetve csigákon elhelyezett (és szegmentált csigák esetén változtatható kialakítású) különböző keverőelemek néhány példája látható a 7. ábrán. Ezekkel a homogenizáló hatás fokozható, a hatóanyag és segédanyagok finom diszperzióját lehet előállítani, s egyúttal az olvadék termikus állapota is egységesebb lesz.

Az extruder szállítóteljesítménye a 8. ábrán feltüntetett különböző belső áramlások térfogatáramából származtatható:





$$V_e = V_s - V_t - V_r \quad (3)$$

A (3) egyenletben szereplő  $V_e$  az összes vagy eredő térfogatáramot ( $\text{m}^3/\text{s}$ ),  $V_s$  a sodróáramot,  $V_t$  a torlóáramot, míg  $V_r$  a résáramot jelöli. (Ez utóbbi a henger és csiga közti résben lép fel, s általában elhanyagolható, mivel a réstávolság minimális.)

Az anyagszállítást meghatározó sodróáramlás ellen ható torlóáramlást a szerszám nyíláson történő átsajtolás során fellépő ellenállás (fojtás), továbbá az anyagszállítás útjába kerülő alkatrészek ellenállása hozza létre (9. ábra).

A 9. ábrán feltüntetett  $v_0$  a csigamag kerületi sebessége, amely egyenesen arányos a fordulatszámmal, ennek következtében a sodróáramlás mértéke és ezáltal a csigacsatorna méreteivel, valamint a fordulatszámmal növelhető [10, 11].

Az ömledékáramlás nagymértékben függ a betáplált anyag viszkozitásától és viszkoelaszticitásától: kb. 100-1000 Pa s belső sűrűdés és megfe-

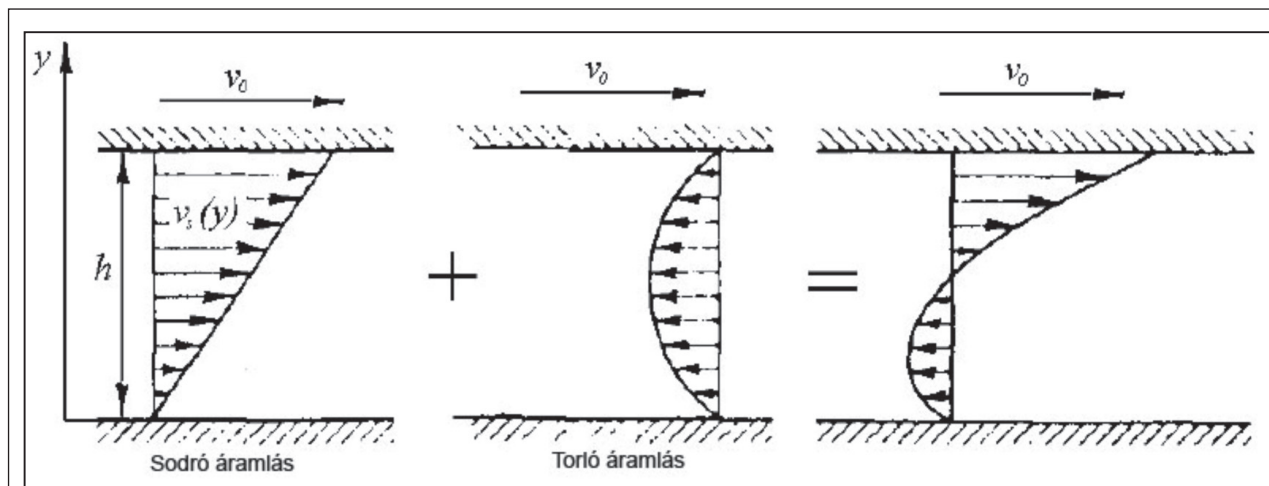
lő olvadékszilárdságot biztosító makromolekuláris komponens szükséges ahhoz, hogy a hatóanyag-segédanyag keverék extrudálható legyen.

Fontos megjegyezni, hogy a garatnak minden esetben alacsony hőmérsékletűnek kell lennie, különben az olvadás/duzzadás már itt megindulhat és elzárhatja a folyamatos adagolás útját.

A II. táblázat foglalja össze az olvadék extrúzióhoz leggyakrabban felhasznált polimereket, melyek központi szerepet játszanak a hatóanyag leadásában illetve annak molekuláris szintű diszpergálásában. A mátrixképzők többsége önmagában nem vagy csak magas hőmérsékleten extrudálható, ezért lágyítók, lubrikánsok hozzáadása is szükséges, továbbá a hatóanyag szilárd oldatának stabilizálása valamint a további feldolgozhatóság érdekében a rendszer viszkozitását is szabályozni kell megfelelő segédanyag alkalmazásával (III. táblázat).

Az amorf rendszerek vizsgálati módszereivel lehet a hatóanyagok molekuláris diszpezióját is jellemezni, továbbá a  $T_g$ , a relaxációs idő valamint a polimer-segédanyag-aktív vegyület közti fáziskölcsönhatások tanulmányozásával a szilárd oldat stabilitása is meghatározható (IV. táblázat). Az extrúziót megelőzően ellenőrizni kell a felhasznált anyagok hőstabilitását illetve a keverék viszkozitását is.

A következő kísérleti részben egy példával szemléltetjük az extrúzió alkalmasságát az





II. táblázat

Olvadék extrúzióhoz leggyakrabban használt mátrixképzők

Anyag neve (móltömeg-tartomány)	Alkalmazás	Hivatkozás
Polimetakrilátok (>100000)	Szilárd oldat, mátrixtabletták	[12,13]
Polivinilpirrolidon (40000-360000)	Szilárd oldat	[14, 1]
Polietilén-glikol (1000-20000)	Szilárd oldat, tenzid	[14, 1]
Hidroxi-propilcellulóz (80000-1150000)	Mátrixtabletták	[15]
Hidroxipropil-metilcellulóz (4000-100000)	Mátrixtabletták	[15, 16]
Polivinilalkohol (26300-30000)	Szilárd oldat	[1, 17]
Kukoricakeményítő	Szilárd oldat	[18]
Glicerín-sztearátok	Lipidextrúzió	[19, 20]

amorfizálásra, melynek fontos előfeltétele a hatóanyag diszperzitásának növelése.

**Spirolakton zárványkomplexének előállítása ikercsigás extrúderben**

*Felhasznált anyagok*

Az extrudátumok mikronizált spironolakton (Spir, C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>S, M=416,574 g/mol, Richter Gedeon NyRt), hidroxipropil-β-ciklodextrin (HPCD, átlagos moláris tömeg: 1400, München Wacker Chemie GMBH,) kukoricakeményítő (Roquette, Italia) és szorbit (Phoenix Magi Kft.) felhasználásával készültek. A komponenseket a következő tömegszázalékos arányban homogenizáltuk: Spir 5%, HPCD 25,2%, kukoricakeményítő 64,8%, szorbit 5%.

*Extrúzió előkészítése és paraméterei*

Az anyagokat előzetes oldás nélkül, por állapotban összemértük, hozzáadtuk a keményítő lágyításához szükséges vízmennyiséget, majd enyhe előhomogenizálás után betöltöttük az extrúderbe (HAAKE MiniLab).

Az V. táblázatban feltüntetett beállítások az optimalizált műveletre vonatkoznak.

*Vizsgálati módszerek*

Az extrudátumokról mikro Raman-spektrométerrel (Jobin Yvon, LabRam) kémiai térképek készültek az eloszlás meghatározására valamint porröntgendiffrakciós (PANanalytical X’pert Pro MPD típusú készülék X’celeratos detektorral) vizsgálatokkal határoztuk meg az extrudátumokban eloszlott anyag kristályszerkezetét.

*Eredmények és értékelésük*

A kísérletek célja amorf spironolakton előállítása volt extrúziós technológiával. Korábban Osama Abd Elazeem Soliman [36] illetve Omid Rajabi [37] és munkatársai porlasztva valamint fagyasztva szárítással állították elő az említett hatóanyag zárványkomplexeit különböző ciklodextrinekkal és azok származékaiival. Ezekben az esetekben a vegyületek előzetes oldására volt szükség, továbbá a szárítási műveletek szakaszosak voltak. Feltételeztük, hogy a folytonos extrúziós technológiával –

III. táblázat

Olvadék extrúzióhoz használt segédanyagok és alkalmazási lehetőségek

Segédanyag neve	Alkalmazás	Hivatkozás
Szorbit	lágylító	[18]
Glicerín	lágylító	[21]
Kis molekulatömegű PEG	lágylító, tenzid	[17]
Glicerín-monosztearát	lubrikáns	[22]
Mikrokristályos cellulóz	pelletizálás, viszkozitás növelése	[23, 24]



IV. táblázat

Szilárd oldatok és diszperziók vizsgálati módszerei		
Vizsgálati módszer neve	Megjegyzés	Hivatkozás
Differenciál pásztázó kalorimetria (DSC)	T <sub>m</sub> , T <sub>g</sub> , fáziskölcsönhatás meghatározása	[25]
Dinamikus mechanikai analízis (DMA)	T <sub>g</sub> , fáziskölcsönhatás meghatározása	[26, 27]
Termogravimetria (TGA)	hőstabilitás vizsgálata	[28]
Termikusan stimulált depolarizációs áram-spektrometria (TSDC)	relaxációs idő, T <sub>g</sub> meghatározása	[29]
Atomi erő mikroszkópia (AFM), mikrotermikus analízis	morfológia, fáziskölcsönhatás meghatározása	[30]
Polarizációs mikroszkópia	kristálymorfológia vizsgálata	[25]
IR-spektrometria	polimorfia tanulmányozása, PAT	[31]
Raman-spektrometria	polimorfia és eloszlás tanulmányozása, PAT	[25, 31, 32]
Por-röntgendiffraktometria, Terahertz-spektrometria	polimorf átalakulások kimutatása	[25, 33]
Szilárd fázisú NMR (ssNMR)	relaxációs idő, fáziskölcsönhatás meghatározása	[34, 35]

V. táblázat

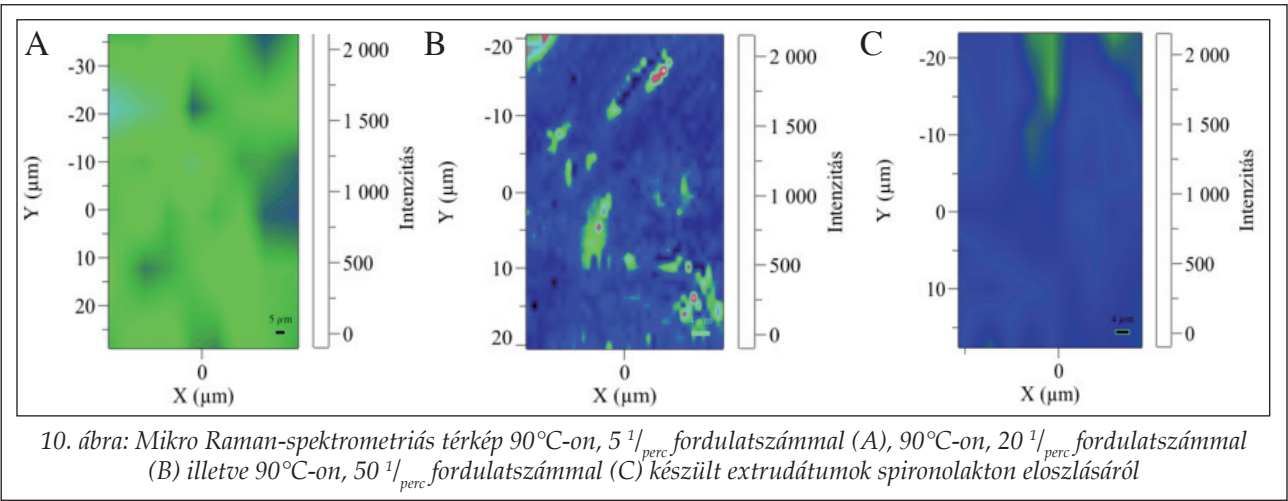
Extrúziós kísérletek paraméterei	
Hőmérséklet	90 °C
Fordulatszám	20 <sup>1</sup> /perc
Tartózkodási idő	5-7 perc

megfelelő paraméterek esetén – mind a hatóanyag, mind a ciklodextrin molekuláris szintű eloszlása kialakítható a meglágyított polimer mátrixban.

Szorbittal és vízzel lágyított kukoricakeményítő 90°C-on kellően plasztikálódik ahhoz, hogy megfelelő fordulatszám alkalmazása mellett a hatóanyag-szemcsék gyakorlatilag teljesen elkülönül-

jenek egymástól. A nyíróerő hatását a spironolakton eloszlására a 10. ábra szemlélteti: az extrudátumok Raman-spektrometriás térképét a fordulatszám növelésével növekvő nyíróerő függvényében egyre egységesebb intenzitáseloszlás (azaz koncentrációeloszlás) jellemzi.

A Spir /HPCD interakció következményeként a hatóanyag Raman-spektruma jelentős eltéréseket mutat a kiindulási anyaghoz képest (11. ábra). A legjellemzőbb változások a tioacetyl oldallánc (1689 cm<sup>-1</sup>) jelintenzitásának erős csökkenése, valamint a szteránváz „A” gyűrűjéhez kapcsolódó ketoncsoport rezgési sávjának eltolódása 1670 cm<sup>-1</sup>-ről 1656 cm<sup>-1</sup>-re (11. ábra B spektrum).

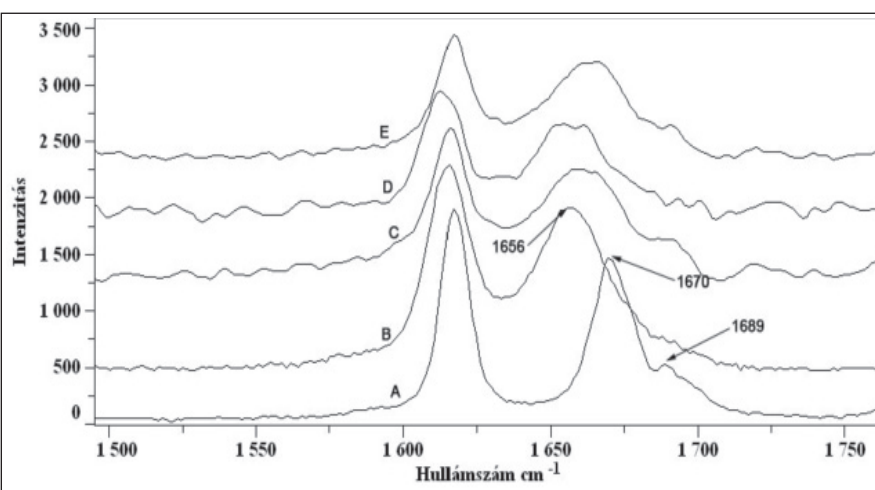


## Összegzés

Rossz vízoldékonyságú hatóanyagok esetében a kristályos állapottal járó hosszú távú rendezettség megszűntetése lehetőséget teremt a vízoldhatóság és az oldódási sebesség javítására. Ennek egyik módja az amorf rendszerek rögzítése, bár ezek fizikai és kémiai változékonysága nehézségeket okozhat a további feldolgozás valamint a készítmény stabilizálása során. Másik alternatíva a legkisebb részecskeméret elérése, azaz molekuláris disz-

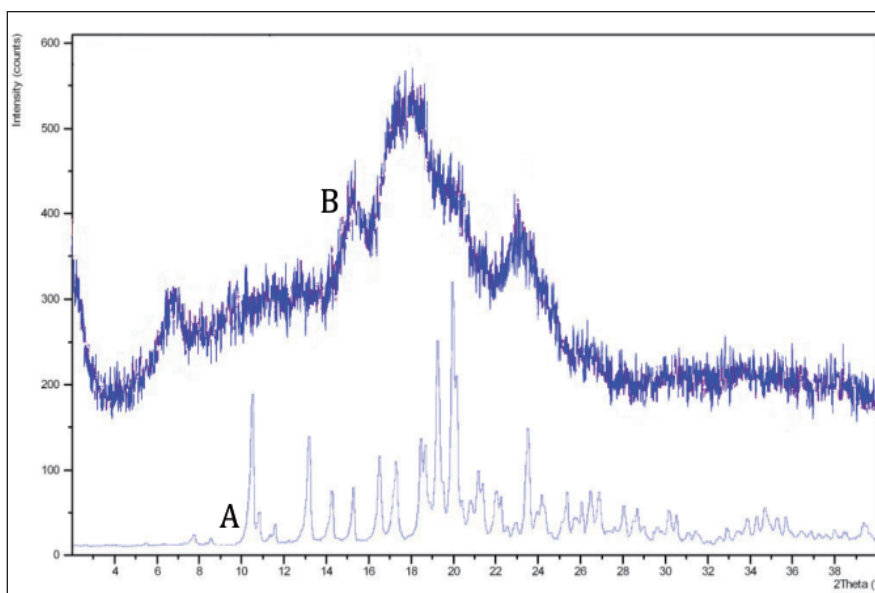
perzió vagy szilárd oldat előállítása, így a kristályosodás gátolható, továbbá a mátrix feloldódása után a hatóanyag túltelített vizes oldata keletkezik. A szilárd oldatok termodinamikai és kinetikai tulajdonságai az amorf rendszerekhez állnak közel. Ebből kiindulva a stabilitás tervezésekor figyelembe kell venni a molekulák mozgékonyágát, melyet a hőmérséklet és a nedvesség mellett a mechanikai hatások is befolyásolhatnak.

Szilárd oldatokat oldószeres valamint oldószermentes módszerekkel lehet előállítani. Az utóbbi lehetőségek közé tartozó extrúziós technológia félfolyamatos/folyamatos gyártás mellett nagyfokú diszperzitás elérésére alkalmas. Megfelelő polimer/lágyító arány mellett és/vagy speciális segédanyag hozzáadásával előállítható a molekuláris diszperzió. Az ikercsigás extrúziós technológia alkalmazhatóságát spironolakton zárványkomplexének előállítása szemlélteti. Az eloszlás paraméterfüggését Raman mikroszkópos térképek jól jellemzik. Raman-spektrum alapján a kiindulási anyaghoz viszonyítva jelentős eltéréseket tapasztaltunk. A legjellemzőbb változások a tioacetil oldal-lánc, valamint a szteránváz „A” gyűrűjéhez kapcsolódó keton csoport rezgési sávjai



11. ábra: Kiindulási hatóanyag (A), Spir/HPCD zárványkomplex (B), 5/20/50  $1/\text{perc}$  fordulatszámon és  $90^\circ\text{C}$ -on készült extrudátumok (C/D/E) Raman-spektrumai

A zárványkomplex kialakulásához intenzív homogenizálás illetve megfelelő tartózkodási idő szükséges, hogy a molekulák komplexálódása megvalósuljon az extrúzió során. A Raman-spektrometriás és por-röntgendiffraktometriás vizsgálatok jól szemléltetik, hogy a a Spir/HPCD interakcióhoz szükséges feltételek  $90^\circ\text{C}$ -on  $20\ 1/\text{perc}$  fordulatszám mellett biztosíthatók. Ennek következményeként a hatóanyag amorfizálódott (12. ábra). Alacsonyabb fordulatszámon ( $5\ 1/\text{perc}$ ) a diszperzitás nem volt megfelelő, míg magasabb fordulatszámon ( $50\ 1/\text{perc}$ ) a tartózkodási idő bizonyult rövidnek.



12. ábra: Kristályos spironolakton (A) és  $90^\circ\text{C}$ -on  $20\ 1/\text{perc}$  fordulatszámmal előállított extrudátum (B) por-röntgendiffraktogramja

esetében adódtak. A por-röntgendiffrakciós vizsgálatok szerint a hatóanyag amorfizálódásának a 90°C és 20<sup>1</sup>/<sub>perc</sub> paraméterkombináció kedvez a legjobban.

### Irodalom

1. Leuner, C., Dressman, J.: Eur J Pharm Biopharm 50. 47- 60, (2000).
2. Lian, Yu: Adv Drug Deliver Rev 48. 27-42, (2001).
3. Petit, S., Coquerel, G.: *The Amorphous State* fejezet a Polymorphism in the Pharmaceutical Industry c. könyvből, szerk.: Rolf Hilfiker, kiadó: Wiley-VCH, 259-285. (2006).
4. Antal, I., Zelkó, R.: Acta Pharm. Hung. 78. 87-90, (2008).
5. Vasconcelos, T., Sarmiento, B., Costa, P.: Drug Discov Today 12. 1068-1075 (2007).
6. Craig, D.Q.M., Royall, P.G., Kett, V.L., Hopton, M.L.: Int J Pharm 179. 179-207 (1999).
7. Laitinen, R., Suikko, E., Toukola, K., Björkqvist, M., Riikonen, J., Lehto V.P., Järvinen, K., Ketolainen, J.: Eur J Pharm Biopharm 71. 271-281, (2009).
8. Janssens, S., Anné, M., Rombaut, P., Van den Mooter, G.: Eur J Pharm Sci (2009) megjelenés alatt.
9. Weuts, I., Kempena, D., Decorte, A., Verreck, G., Peeters, J., Brewster, M., Van den Mooter, G.: Eur J Pharm Sci 22. 375-385, (2004).
10. Schwarz, Ebeling, Lüpke, Schelter: *Extrudálás* fejezet a Műanyagfeldolgozás c. könyvből. p. 52-75. Műszaki kiadó, Budapest, 1987.
11. Mc.Kelvey, J.M.: *Plasztikáló extrúderék* fejezet a Polimerek feldolgozása c. könyvből. p. 242-251. Műszaki kiadó, Budapest, 1966.
12. Schilling, S.U., Bruce, C.D., Shah, N.H., Malick, A.W., McGinity, J.W.: Int J Pharm 361. 158-168, (2008).
13. Qi, S., Gryczke, A., Belton, P., Craig, D.Q.M.: Int J Pharm 354. 158-167, (2008).
14. Forster, A., Hempenstall, J., Tucker, I., Rades, T.: Int J Pharm 226. 147-161, (2001).
15. Repka, M.A., Gutta, K., Prodduturi, S., Munjal, M., Stodghill, S.P.: Eur J Pharm Biopharm 59. 189-196, (2005).
16. De Brabander, C., Vervaet, C., Remon, J.P.: J Control Release 89. 235-247, (2003).
17. Crowley, M.M., Zhang, F., Repka, M.A., Thumma, S., Upadhye, S.P., Battu, S.K. McGinity, J.W., Martin, C.: Drug Dev Ind Pharm, 33. 909-926, (2007).
18. Henrist, D., Lefebvre, R.A., Remon, J.P.: Int J Pharm 87. 185-191, (1999).
19. Reitz, C., Kleinebudde, P.: Eur J Pharm Biopharm 67. 440-448, (2007).
20. Hauss, D.J.: Adv Drug Deliv Rev 59. 667-676, (2007).
21. Cordoba, A., Cuéllar, N., González, M., Medina, J.: Carbohyd Polym 73. 409-416, (2008).
22. Henrist, D., Remon, J.P.: Int J Pharm 189. 7-17, (1999).
23. Young, C.R., Koleng, J.J. McGinity, J.W.: Int J Pharm 242. 87-92, (2002).
24. Liu, J., Zhang, F., McGinity, J.W.: Eur J Pharm Biopharm 52. 181-190, (2001).
25. Forster, A., Hempenstall, J., Tucker, I., Rades, T.: Int J Pharm 226. 147-161, (2001).
26. Royall, P.G., Huang, C., Jai Tang, S., Duncan, J., Van de Velde, G., Brown, M.B.: Int J Pharm 301. 181-191, (2005).
27. Mahlin, D., Wood, J., Hawkins, N., Mahey, J., Royall, P.G.: Int J Pharm 371. 120-125, (2009).
28. Dong, Z., Chatterji, A., Sandhu, H., Choi, D.S., Chokshi, H., Shah, N.: Int J Pharm 355. 141-149, (2008).
29. Gun'ko, V.M., Zarko, V.I., Goncharuk, E.V., Andriyko, L.S., Turov, V.V., Nychiporuk, Y.M., Leboda, R., Skubiszewska-Zięba, J., Gabchak, A.L., Osovskii, V.D., Ptushinskii, Y.G., Yurchenko, G.R., Mishchuk, O.A., Gorbik, P.P., Pissis, P., Blitz, J.P.: Adv Colloid Interfac Sci 131. 1-89, (2007).
30. Turner, Ya Tsz A., Roberts, C.J., Davies, M.C.: Adv Drug Deliver Rev 59. 1453-1473, (2007).
31. Bugay, D.E.: Ad Drug Deliver Rev 48. 43-65, (2001).
32. Hausman, D.S., Cambron, R.T., Sakr, A.: In J Pharm 299. 19-33, (2005).
33. Beard, M.C., Turner, G.M., Schmuttenmaer, C.A.: J Phys Chem B 106. 7146-7159, (2002).
34. Holzgrabe, U., Diehl, B.W.K., Wawer, I.: J Pharmaceut Biomed Anal 17. 557-616, (1998).
35. Berendt, R.T., Sperger, D.M., Isbester, P.K., Munson, E.J.: Trends Anal Chem, 25.(10) (2006).
36. Soliman, O.A.E., Kimura, K., Hirayama, F., Uekama, K., El-Sabbagh, H.M., Abd El-Gawad Helmy Abd El-Gawad, Hashim, F.H.: Int J Pharm, 149. 73 -83, (1997).
37. Rajabi, O., Tayyari, F., Salari, R., Tayyari, S.F.: J Mol Struct, accepted 30 July 2007.
38. Breitenbach, J.: Eur J Pharm Biopharm 54. 107-117, (2002).
39. Zhang, F., McGinity, J.W.: Pharm Dev Technol 4(2) 241-250, (1999).
40. Coppens, K.A., Hall, M.J., Mitchell, S.A., Read, M.D.: Pharmaceutical technology 62-70. January (2006).
41. Révész, P.: *Amorf anyagok szerepe a gyógyszeriparban* fejezet A kristályosítástól a tablettázásig c. könyvből, szerk.: Farkas, B., Révész, P., Universitas Szeged Kiadó, Szeged, 247-266. (2007).
42. Liu, J., Rigsbee, D.R., Stotz, C., Pikal, M.J.: J Pharm Sci 91. 1853-1862, (2002)

[Érkezett: 2009. szeptember 14.]





## A CONGRESSUS PHARMACEUTICUS HUNGARICUS XIV. TUDOMÁNYOS ÉS SZAKMAI PROGRAMJA

Budapest, Kongresszusi Központ  
2009. november 13-15.



*„Biztonságos gyógyszerek – hatékony gyógyszerellátás  
A 'dr. pharm.' cím kötelező!"*

### 2009. NOVEMBER 13. (PÉNTEK)

08.30 – 10.00 **Gyakorlat-orientált tréningek**  
(részletesen lásd külön)

10.30 – 12.20 **MEGNYITÓ, KÖSZÖNTÉSEK,  
KITÜNTETÉSEK,  
NYITÓ HANGVERSEN**

12.20 – 13.30 **PLENÁRIS ELŐADÁSOK**

Üléselnök: Vincze Zoltán

12.20 – 12.50 *Kamal K. Midha* (FIP elnöke): The value of innovation: steering pharmaceuticals towards patients needs

12.50 – 13.10 *Szepezdi Zsuzsanna*: Biztonságos gyógyszerek – gyógyszerertörzskönyvezés egykor és ma

13.10 – 13.30 *Hegedűs Lajos*: Mergerek és akvizíciók megvalósítása a generikus gyógyszeriparban

13.30 – 14.30 **Ebédszünet, kiállítás**

14.30 – 16.00 **GYÓGYSZERINNOVÁCIÓS FÓRUM**  
*A gyógyszerinnováció hazai helyzete: gondok és lehetőségek*

Moderátor: Klebovich Imre,  
Márkus Sarolta

Vitaindító előadások:

14.30 – 14.50 *Blaskó Gábor*: Gyógyszerkutatás lehetőségei Magyarországon – egy multinacionális vállalat szemszögéből

14.50 – 15.10 *Fésűs László*: Új lehetőségek az egyetemek és a gyógyszeripar együttműködésében

15.10 – 15.30 *Greiner István*: Gyógyszerkutatás és -fejlesztés Magyarországon: Álom vagy valóság?

15.30 – 16.00 Hozzászólások, vita.

16.00 – 16.30 **Kávészünet, kiállítás**

16.30 – 18.30 **SZEKCIÓ ELŐADÁSOK (I.)**

**1. Gyógynövény Szakosztály: Gyógynövénykutatás és alkalmazás a mérleg két oldalán**

16.30 – 16.50 *Rudolf Bauer*: The potential of Chinese herbs for the development of medicinal products

16.50 – 17.05 *Szendrei Kálmán*: Gyógynövények mint élelmiszerek, étrendkiegészítők, növényi gyógyszerek: hol vannak a határok? – szabályozási problémák

17.05 – 17.20 *Dános Béla*: Intermediér anyagcsere és kiválasztórendszerek, mint a farmakobotánika (gyógynövénytan) alappillérei

17.20 – 17.35 *Alberti Ágnes, Blazics Balázs, Paput László, Kéry Ágnes*: *Sempervivum tectorum* fenoloidjainak fitokémiai és *in vitro* hatásvizsgálata

17.35 – 17.50 *Rédei Dóra, Forgó Péter, Hohmann Judit*: Az *Echinacea purpurea* kémiai és farmakológiai újabb eredményei

17.50 – 18.05 *Böszörményi Andrea, Héthelyi Éva, Farkas Ágnes, Horváth Györgyi, Papp Nóra, Szőke Éva, Lemberkovics Éva*: Néhány *Salvia* faj/ változat kémiai és genetikai rokonság vizsgálata

18.05 – 18.30 Vita

**2. Gyógyszer technológiai Szakosztály: Hatóanyagleadás szabályozásának lehetőségei**

16.30 – 16.50 *Erős István*: Kolloid gyógyszerhordozó rendszerek – mint szabályozott hatóanyagleadók

16.50 – 17.05 *Révész Piroska*: Oldódás elősegítésének lehetőségei

17.05 – 17.20 *Dévay Attila, Pál Szilárd*: A hatóanyagleadás folyamatának új elméleti és gyakorlati megközelítése

17.20 – 17.35 *Vecsernyés Miklós, Bácskay Ildikó*: Segédanyagok felszívódásra gyakorolt hatása

17.35 – 17.50 *Fehér András, Zsigmond Zsolt*: A mikronizálás jelentősége a szilárd gyógyszerkészítmények formulálásában

17.50 – 18.05 *Kállai Nikolett, Antal István*: Rétegzett pelletek előállítása és vizsgálata

18.05 – 18.30 Vita

**3. Gyógyszeranalitikai Szakosztály: Állandó és ellenőrzött gyógyszerminőség változó világunkban**

16.30 – 16.50 *Pethő Gábor*: A gyógyszeripari minőségirányítás jelene és jövője

16.50 – 17.05 *Kőszeginé Szalai Hilda*: Gyógyszervegyületek, és gyógyszerkészítmények szennyezés vizsgálatának hatósági irányelvei

17.05 – 17.20 *Babják Mónika, Gazdag Mária*: Újabb kihívások és gyógyszeranalitikai megoldások a genotoxikus szennyezések vizsgálatában

17.20 – 17.35 *Rakiás Ferenc*: Radiógyógyszerek szennyezés vizsgálata

17.35 – 17.50 *Hári Zsuzsa, Szirácz Szabolcs*: Toxin mentesség és reverz toxicitás vizsgálata diftériatoxoidon, *in vitro* módszer alkalmazása *in vivo* helyett



- 17.50 – 18.05 *Benkő András*: Különleges rizikófaktor: szildenafil alkalmazása és hirtelen halál – elméleti háttér és kísérleti analitika  
 18.05 – 18.30 *Vita*

#### 4. Gyógyszeripari Szervezet: A XXI. század gyógyszeripari kihívásai – biztonság az újdonságban

- 16.30 – 16.50 *Thaler György*: Mi látható ma a gyógyszeripar jövőjéből?  
 16.50 – 17.05 *Kollár Éva, Fekete Szabolcs, Baranyáné Ganzler Katalin, Bódis Attila*: Biotechnológiai készítményfejlesztés  
 17.05 – 17.20 *Kiss Dorottya, Báthori György, Gürtler Edit, Nagyné Turák Anikó, Elekes Ottília, Halász Attila Sándor, Demeter Ádám, Bódis Attila*: Nanotechnológia a gyógyszerformulálásban  
 17.20 – 17.35 *Virágh-Hadas Mária, Gürtler Edit, Nagyné Turák Anikó*: Új kihívások az originális készítményfejlesztésben  
 17.35 – 17.50 *Kőszeginé Szalai Hilda*: Tervezett gyógyszerminőség – tervezési tér (ICHQ8)  
 17.50 – 18.05 *Kósa Tibor*: A gyógyszer életút új minőségszemlélete (ICHQ10)  
 18.05 – 18.30 *Vita*  
 19.30 – **KÜLFÖLDI TÁRSASÁGOK ÉS HAZAI TÁRSSZERVEZETEK KÖSZÖNTŐI HANGVERSENY**  
 Kongresszusi Központ

#### 2009. NOVEMBER 14. (SZOMBAT)

#### 09.00 – 11.00 SZEKCIÓ ELŐADÁSOK (II.)

#### 5. Gyógyszeranalitikai Szakosztály és Gyógyszeripari Szervezet: A „biztonságos” és „gazdaságos” gyártási folyamat

- 09.00 – 09.20 *Tószaki Árpád*: A gyógyszerfejlesztés kapcsolódása a gyógyszeriparhoz a Debreceni Egyetemen: innováció  
 09.20 – 09.35 *Venczel Márta, Újhelyi Gabriella, Hódi Klára*: Az átfolyó cellás kioldódás vizsgálat, mint egy hasznos eszköz a felfedező kutatástól a preklinikai fejlesztésig  
 09.35 – 09.50 *Fekete Pál*: PAT (Process Analytical Technology) – eredmények és lehetőségek  
 09.50 – 10.05 *Monori Csilla*: PAT helyzet a parametrikus felszabadításban  
 10.05 – 10.20 *Morvai Magdolna*: Kockázatelemzés, mint a Minőségügyi Rendszer része  
 10.20 – 10.35 *Tonka-Nagy Péter*: Gyorsabb, informatívabb stabilitási vizsgálatok UPLC-MS-sel a gyógyszerkészítmények korai fejlesztési fázisában  
 10.35 – 11.00 *Vita*

#### 6. Gyógynövény Szakosztály és Gyógyszerkutató Szakosztály: Gyógynövények és természetes vegyületek napjaink gyógyszerkutatásában

- 09.00 – 09.20 *Zupkó István, Hohmann Judit*: Növényi eredetű citosztatikumok kutatása  
 09.20 – 09.35 *Molnár Péter, Horváth Györgyi, Turcsi Erika, Szabó Ildikó, Deli József*: Néhány

gyógynövény virágzatának és termésének karotinoid-analízise

- 09.35 – 09.50 *Gáspár Róbert, Seres Adrienn*: A heretej androgén hatásának vizsgálata patkányban  
 09.50 – 10.05 *Juhász Béla, Tószaki Árpád*: Mit köszönhetünk a gyógynövényeknek?  
 10.05 – 10.20 *Szakonyi Zsolt, Martinek A. Tamás, Fülöp Ferenc*: Királis béta-aminosav-származékok előállítása természetes forrásból  
 10.20 – 10.35 *Hunyadi Attila, Chuang Da-Wei, Chen Shu-Li, Wu Chin-Chung, Chang Fang-Rong, Wu Yang-Chang*: Citotoxikus flavonoidszármazékok előállítása gyors, egyszerű félszintézissel  
 10.35 – 11.00 *Vita*

#### 7. Gyógyszerésztörténeti Szakosztály: Gyógyszerésztörténeti emlékeink tanulságai

- 09.00 – 09.20 *Klaus Meyer*: Die Gesellschaft für Geschichte der Pharmazie (1926-1945) – deutsch oder international?  
 09.20 – 09.35 *Sági Erzsébet*: A budai Szent Erzsébet Apácarend női kórháza és gyógyszerháza  
 09.35 – 09.50 *Kata Mihály, Gyéresi Árpád*: A Báthori István alapította Kolozsvári Egyetem és három utód-egyeteme története  
 09.50 – 10.05 *Péter H. Mária*: Az 1770-es Egészségügyi Főszabályzatot (Generale normativum in re sanitatis) megelőző erdélyi javaslatok a gyógyszerházak ellenőrzésére  
 10.05 – 10.20 *Háznagyné Radnai Erzsébet*: A gránátalma kultúrtörténete és gyógyszerészeti vonatkozásai  
 10.20 – 10.35 *Ferentzi Mónika*: Charles Darwin (1809-1882) és a gyógyszerészet  
 10.35 – 11.00 *Vita*

#### 8. Kórházi Gyógyszerészeti Szervezet: Gyógyszer- és betegbiztonság, új terápiás lehetőségek

- 09.00 – 09.20 *Trestyánszky Zoltán*: A gyógyszeres terápiát hátrányosan befolyásoló tényezők  
 09.20 – 09.35 *Kis Szölgémi Mónika*: Gyógyszerbiztonság határainkon innen és túl  
 09.35 – 09.50 *Hankó Balázs*: A kórházi és officinai gyógyszerészet közös feladatai a gyógyszerbiztonság érdekében  
 09.50 – 10.05 *Fittler András, Doró Péter*: A kórházi gyógyszerterápia gyógyszerészeti segítése a bizonyítékokon alapuló orvoslás alkalmazásával  
 10.05 – 10.20 *Nagyné Ambrus Ildikó*: Minőségi standardok és indikátorok a kórházi gyógyszerellátásban.  
 10.20 – 10.35 *Pintye János*: Gyógyszerészeti kompetenciák a fehérje hatóanyag-tartalmú gyógyszerek kapcsán  
 10.35 – 10.45 *Vita*

#### 11.00 – 11.30 Kávészünet, kiállítás

#### 11.30 – 13.30 PLENÁRIS ELŐADÁSOK

Üléselnök: *Erős István, Bagdy György*

- 11.30 – 11.50 *Zrínyi Miklós*: A nanomedicina gyógyszerei  
 11.50 – 12.10 *Falkay György*: A transzportfehérjék szerepe és jelentősége a gyógyszerkutatásban.

- 12.10 – 12.30 *Halmos Gábor*: GHRH receptorok mint új molekuláris célpontok a daganatterápiában  
 12.30 – 12.50 *Fülöp Ferenc*: Kis molekulák kémiája – egyetemi gyógyszerkutatás  
 12.50 – 13.10 *Hohmann Judit*: Gyógynövények mint élelmiszerek, étrendkiegészítők, növényi gyógyszerek: hol vannak a határok? – gyógyszerészi szemmel  
 13.10 – 13.30 *Perjési Pál*: Természetes vegyületek és szintetikus származékaik a gyógyszerkutatásban

13.30 – 14.30 **Ebédészünet, kiállítás**

### 14.30 – 16.30 SZEKCIÓ ELŐADÁSOK (III.)

#### 9. Gyógyszerkutatási Szakosztály: A pathomechanizmustól a gyógyszermolekuláig

- 14.30 – 14.50 *Mátyus Péter*: Gyógyszerkémia a gyógyszerkutatásban: mit és hogyan?  
 14.50 – 15.10 *Barthó Loránd*: Simaizomaktív vegyületek gyógyszerhatástani összefüggései (különös tekintettel az emberi szövetekre *in vitro* és *in vivo*): neuropeptidok, purinvegyületek, nitrogén-monoxid, szén-monoxid  
 15.10 – 15.25 *Szőkő Éva*: Szemikarbazid-szenzitív-aminoxidáz (SSAO): egy lehetséges gyógyszer-támadáspont  
 15.25 – 15.40 *Minorics Renáta, Zupkó István, Spiegl Gábor, Falkay György*: Az uterus adrenerg funkciói kísérletes diabetes modellben  
 15.40 – 15.55 *Bagdy György*: A genetika alkalmazása a terápiás hatás előrejelzésére  
 15.55 – 16.10 *Süille András*: Sztatinok komplexképzése ciklodextrinokkal: újszerű gyógyszer-technológiai lehetőségek a farmakokinetika szolgálatában  
 16.10 – 16.30 **Vita**

#### 10. Gyógyszeranalitikai Szakosztály és Gyógyszerésztörténeti Szakosztály: Csillagok a gyógyszerészet egén

- 14.30 – 14.50 *Bayer István*: Gyógyszerészek, akiket a világ ünnepel  
 14.50 – 15.10 *Tömpe Péter*: Than Károly (1834-1908)  
 15.10 – 15.25 *Szmodits László, Ferentzi Mónika*: Winkler Lajos (1863-1939)  
 15.25 – 15.40 *Benkő András*: Felletár Emil (1834-1917)  
 15.40 – 15.55 *Budaházy István*: Barla Dezső (1864-1950) – egy erdélyi gyógyszerész életpályája  
 15.55 – 16.10 *Kapronczay Károly*: Ernyey József (1869-1945) és a hazai gyógyszerésztörténeti alapgyűjtemények  
 16.10 – 16.30 **Vita**

#### 11. Gyógyszertechnológiai Szakosztály és Gyógyszeripari Szervezet: Szerkezet, tulajdonság funkciók a készítmény fejlesztésben

- 14.30 – 14.50 *Antal István*: A gyógyszerforma szerkezete, funkciója és a különleges alkalmazási előírások összefüggései  
 14.50 – 15.10 *Bódis Attila*: Gyógyszertechnológiai fejlesztés iparjogvédelmi szempontjai  
 15.10 – 15.25 *Schnitzer Ferenc, Inzeltné Kovács Mariann*: Steril készítmények fejlesztésének szempontjai

- 15.25 – 15.40 *Zelkó Romána, Sente Virág*: Tárolás során bekövetkező szerkezetváltozás követésének lehetőségei  
 15.40 – 15.55 *Bajdik János, Elnazeer I. Hamedelniei, Hódi Klára*: Nedvesítő folyadék hatása az extrudálással és szferonizálással előállított pelleték tulajdonságaira  
 15.55 – 16.10 *Angyal Nóra, Antal István*: Szabályozott hatóanyagleadású minitabléták fejlesztése  
 16.10 – 16.30 **Vita**

#### 12. Kórházi Gyógyszerészeti Szervezet és Farmakoterápiás és Gyógyszerészi Gondozási Szakosztály: Járó- és fekvőbetegek gyógyszerelésének gyógyszereszi kapcsolása

- 14.30 – 14.50 *Higysán Ilona, Soós Gyöngyvér*: Gyógyszerelés biztonsága, megbízhatóság a kórház falain belül és azon kívül  
 14.50 – 15.10 *Valent György*: Hogy csinálják az UK-ban; Liverpooi tapasztalatok  
 15.10 – 15.25 *Haraga Viktória*: Gyermekegyeszerelés problémái; amiben segíthetünk  
 15.25 – 15.40 *Lankó Erzsébet*: Gyógyszerváltások és követések a generikus program szerint  
 15.40 – 15.55 *Flamich Eszter, Cseh Ibolya*: Krónikus hepatitiszes betegek gondozása közvetlen lakossági gyógyszerellátást végző gyógyszer-tárban  
 15.55 – 16.10 *Lovas Kornélia*: Mennyire segíthet az „intelligens” TAJ kártya  
 16.10 – 16.30 **Vita**

#### 16.30 – 17.00 Kávészünet, kiállítás

### 17.00 – 18.30 GYÓGYSZELLÁTÁSI FÓRUM

*Lakossági gyógyszerellátás és gyógyszer-tári szolgáltatások: megőrizhető-e a szakmai tartalom és minőség a liberalizált piaci körülmények között?*

Moderátor: Télessy István,  
Botz Lajos

Vitaindító előadások:

- 17.00 – 17.20 *Bódis Lászlóné*: A hatóság szerepe a biztonságos gyógyszerellátás megőrzésében, az ellenőrzési tapasztalatok tükrében  
 17.20 – 17.40 *Bodrogi József*: Gyógyszerellátás gazdasági feltételrendszerének változásai, azok látható és várható következményei  
 17.40 – 18.05 *Hankó Zoltán, Botz Lajos*: Gyógyszerészi kompetenciák, gyógyszer-tári szolgáltatások és piaci környezet változásai, hatásai  
 18.05 – 18.30 **Hozzászólások, vita**

### 17.00 – 18.30 WORKSHOP

Üléselnök: Csóka Ildikó

*Arto Urtti*: Author Masterclass Workshop „How to write and submit a world-class paper” for scientists who want to develop their manuscript writing skills. (A workshopra előzetes jelentkezés szükséges.)

### 20.00 – 24.00 FOGADÁS

Kongresszusi Központ

## 2009. NOVEMBER 15. (VASÁRNAP)

## 09.00 – 10.45 SZEKCIÓ ELŐADÁSOK (IV.)

**13. Gyógyszerügyi Szervezési és Közigazgatási Szakosztály: A gyógyszerellátás szervezeti, szervezési kérdései a liberalizáció tükrében**

- 09.00 – 09.20 *Simon Kis Gábor*: Gyógyszerellátás színvonal: stagnálás, visszafejlődés, vagy előremenekülés
- 09.20 – 09.35 *Noszál Béla*: Gyógyszerészképzés, mint a gyógyszerészi hivatás fundamentuma
- 09.35 – 09.50 *Kahlesz Tímea*: Patikalánc, láncpatika – jogi, etikai kérdések.
- 09.50 – 10.05 *Télessy István*: Standardok és protokollok a lakossági gyógyszerellátás minőségbiztosításának tervezésében
- 10.05 – 10.20 *Mikola Bálint*: A moratóriumról. Milyen szervezeti változtatások, szervezeti kérdések merülnek ezzel kapcsolatban fel
- 10.20 – 10.45 Vita

**14. Oktatási Szakosztály: Gyógyszerész – graduális és posztgraduális – képzés megújításának lehetséges irányelvei**

- 09.00 – 09.20 *Erős István*: A gyógyszerészképzés távlatai
- 09.20 – 09.35 *Zelkó Romána*: Az intézeti oktató gyógyszerterek szerepe a dr. pharm képzésben
- 09.35 – 09.50 *Pallos Henrik*: A gyógyszerészképzés curriculum-fejlesztésének tapasztalatai: a japáni példa
- 09.50 – 10.05 *Linh Thuy Nguyen*: Blended teaching in English for specific purposes: Applications in pharmacy education
- 10.05 – 10.20 *Gyenge Melinda*: A dr. pharm cím a gyakorló gyógyszerész szemével
- 10.20 – 10.45 Vita

**15. Farmakoterápiás és Gyógyszerészi Gondozási Szakosztály: Gyógyszerészi gondozás hazai helyzete**

- 09.00 – 09.20 *Samu Antal*: A metabolikus szindróma gondozási program, mint az „emelt szint” modellje
- 09.20 – 09.35 *Hankó Balázs*: A gyógyszerbiztonsági validálás protokollja – a receptköteles expedíáláshoz kapcsolódó gondozási kötelezettségek
- 09.35 – 09.50 *Bende Erika*: Metabolikus szindróma program – a megvalósítás tapasztalata

- 09.50 – 10.05 *Benkő Zsolt*: A DM prevenció újabb útja
- 10.05 – 10.20 *Doró Péter*: A műszeres compliance ellenőrzés lehetősége: MEMS® alkalmazás hypertóniások követésére
- 10.20 – 10.35 *Bánkúti Péter*: Orphan gyógyszerekre szoruló gondozása
- 10.35 – 11.00 Vita

## 09.00 – 10.45 IFJÚSÁGI FÓRUM

*A (fiatal) gyógyszerészek lehetőségeiről és problémáiról. Elhelyezkedés, szakképzés, doktori képzés, külföldi munkavállalás. A gyógyszerészet fiatalok szemével – nem csak fiataloknak.*

Moderátor: Kiss Tímea,  
Szabady Júlia

Vitaindító előadások:

- 09.00 – 09.20 *Bozó Tamás*: Az MGYT Ifjúsági Bizottság bemutatása
- 09.20 – 09.35 *Ambrus Rita*: A PhD iskolák és a szakképzés helyzetéről
- 09.35 – 09.50 *Benkő Bernadett*: Gyógyszerészek a magyar gyógyszeriparban
- 09.50 – 10.05 *Perjés Éva*: A külföldi munkavállalás lehetőségei, tapasztalatai. Angliából jöttem, híres mesterségem címe: gyógyszerész.
- 10.05 – 10.45 Vita

## 10.45 – 11.45 POSZTER SZEKCIÓ

## 11.45 – 12.00 Kávészünet, kiállítás

## 12.00 – 13.20 PLENÁRIS ELŐADÁSOK

Üléselnök: Zelkó Romána,  
Csóka Ildikó

- 12.00 – 12.20 *Soós Gyöngyvér*: Meddig gurult a „varázsgolyó”? – a gyógyszerészi gondozás elmúlt évtizedes gondjai és eredményei
- 12.20 – 12.40 *Télessy István*: Utunk a diplomás kereskedőtől a dr. pharm. címig
- 12.40 – 13.00 *Hankó Zoltán*: Minőség, etika és üzlet a gyógyszerterében – a gyógyszerészi kompetenciák tükrében
- 13.00 – 13.20 *Botz Lajos*: Gyógyszerészi gyakorlatunkról: foglalkozás vagy hivatás?

## 13.25 – 13.45 ZÁRSZÓ

## 14.00 – 15.30 Gyakorlat-orientált tréningek (részletesen lásd külön)

GYAKORLAT-ORIENTÁLT TRÉNINGEK

A tréningek időpontjai

- A kongresszus előtt:  
2009. november 13. (péntek), 8.30 – 10.00;
  - A kongresszus után:  
2009. november 15. (vasárnap), 14.00 – 15.30.
- A tréningek mindkét időpontban a táblázatban jelölt 9 témakörben kerülnek meghirdetésre.

A tréningen való részvételhez előzetes jelentkezés szükséges.

A tréningek felépítése

- Bevezető referátum: a téma általános áttekintése, a kapcsolódó problémák kiemelése, kb. 30 perc.
- Kiscsoportos foglalkozás: a tréner által kijelölt, dokumentált egyedi problémák megbeszélése, megoldása, kb. 30 perc.
- Megoldások prezentálása csoportonként (írásvetítéssel), kb. 15 perc.
- A tréningvezető/k összefoglalója, kb. 15 perc.

Sor-szám	Tréning címe	Rendező szakosztály / szervezet	Előadók
1.	A menopauza fitoterápiájának gyakorlata	Gyógynövény Szakosztály	Csupor Dezső Vasas Andrea Liktor-Busa Erika
2.	Kockázatelemzés	Gyógyszeripari Szervezet	Berényi Vilmos
3.	Gyógyszermellékhatás bejelentés – Pharmacovigilance	Gyógyszeripari Szervezet	Koncsik Gábor
4.	Új lehetőségek a citosztatikum tartalmú gyógyszerek készítésében (általános előállítási szempontok, valamint a Cato és CytoCare – rendszerek)	Kórházi Gyógyszerészeti Szervezet	Szabó Csongor Mónus Tamás Télessy István
5.	Rövid-bél szindrómás betegek táplálása, gyógyszerészi gondozása	Kórházi Gyógyszerészeti Szervezet	Schirm Szilvia
6.	Kórházi betegek terápia elemzése (adagolási hibák, interakciók, mellékhatások)	Kórházi Gyógyszerészeti Szervezet	Soós Gyöngyvér
7.	Asthma gondozás – applikátorok, terápia követés eszközös és verbális eszközei	Farmakoterápiás és Gyógyszerészi Gondozási Szakosztály	Doró Péter Pál Nimród
8.	„Point of care” – gyors diagnosztikumok alkalmazása, mint a gyógyszerészi gondozás egyik lehetősége (szűrés, terápia követés)	Farmakoterápiás és Gyógyszerészi Gondozási Szakosztály	Földesi Imre Benkő Ria
9.	Bőrgyógyászati kérdések és megoldásuk a gyógyszerértárban	Oktatási Szakosztály	Szökö Éva Tábi Tamás Pálfi Melinda

Jelentkezés feltétele, módja

- A tréningek időpontja tájékoztató jellegű.
- A jelentkezők max. két tréninget választhatnak.
- A csoportok beosztása jelentkezési sorrendben történik. Az adott tréning a jelentkezők számától függően kerül egy vagy két alkalommal megrendezésre.
- Egy csoport min. 15, max. 35 főből áll.
- A tréningekre csak a CPhH XIV. regisztrált résztvevői jelentkezhetnek.

Jelentkezés határideje: 2009. október 16.

Tréningenként 5 továbbképzési pont szerezhető.





## Szerzői útmutató

Az *Acta Pharmaceutica Hungarica* a gyógyszerészeti tudományok területéről közöl eredeti, kísérletes kutatómunka eredményeit bemutató közleményeket, de fórumot biztosít összefoglaló és nem kísérletes (történeti, szervezési) tanulmányok, valamint Ph.D. és D.Sc. értekezések téziseinek közlésére is.

Hazai kutatóhelyek vagy olyan szerzői kollektívák magyar nyelvű kéziratait közöljük, ahol az első szerző magyar. Lehetőség van külföldi folyóiratban már megjelent, kiemelkedő jelentőségű közlemények magyar nyelvű változatának közlésére is, az első megjelenés időpontjától számított egy éven belül, az első közlés bibliográfiai adatainak megjelölésével.

### Közlésre elfogadjuk:

1. Összefoglaló közleményeket, legfeljebb 25 gépelt oldal terjedelemben. Ezek megírására általában a szerkesztőbizottság felkérésére kerülhet sor, illetve az erre irányuló szándékot célszerű előzetesen egyeztetni a szerkesztőbizottsággal.

2. Közleményeket, legfeljebb 12 gépelt oldal terjedelemben. Az ábrák és táblázatok együttes száma maximálisan 10 lehet.

3. Rövid közleményeket, legfeljebb 4 gépelt oldal terjedelemben (összesen legfeljebb 4 ábra és táblázat). A közlemények megjelenési sorrendjében a rövid közlemények előnyt élveznek.

4. Ph.D. értekezések összefoglaló közleményét, legfeljebb 25 oldal terjedelemben.

Feleslegesen nagy terjedelmű dolgozatok esetében a szerkesztőbizottság fenntartja magának a jogot arra, hogy a lektori javaslatok alapján a szerzőt felkérje dolgozatának rövid közleménnyé való átdolgozására.

### A kézirat elkészítésének módja:

#### a) Általános szempontok

A kéziratot elektronikusan, csatolt file-ként kell a felelős szerkesztő e-mail címére elküldeni: zelrom@gytk.sote.hu

A táblázatokat külön file-ként, címmel és római sorszámmal ellátva készítjük.

Az ábrák és egyéb illusztrációk olyan színvonalon készüljenek, hogy azok nyomdai szerkesztésre alkalmasak legyenek. Az ábrákat külön file-ként kell csatolni, az elnevezésben az ábraszámokat fel kell tüntetni. Javasolt formátum: jpg, tiff.

Az irodalmi hivatkozásokat külön, a hivatkozások sorrendjében közöljük. A hivatkozási számot a szövegben tegyük szögletes zárójelbe.

#### A hivatkozások módja:

##### Folyóiratcikk:

1. Revell, L. K., Musser, S. M., Rowe, B. J., Feldmann, I. C.: J. Pharm. Sci. 86, 631-634 (1997)

##### Szakkönyv:

2. Gyarmati L., Rác L., Plachy J., Csontos A.: A gyógyszer-technológia és biofarmácia kémiai ellenőrző módszerei. Medicina, Budapest, 1982. 147-152. old.

##### Könyvfejezet:

3. Ariens, E. J.: Racemates – an impediment in the use of drugs and agrochemicals. In: Krstulovic, A.M. (ed): Chiral Separations by HPLC. Ellis Horwood, Chichester, 1989. pp. 31-68.

#### Szabadalom:

4. U.S. Pat. 3 425 422 (1984)

#### Konferencia-előadás:

5. Duncan, R.: Polymer therapeutics: Targeting drugs and genes to tumours. 6<sup>th</sup> European Congress of Pharmaceutical Sciences. Eur. J. Pharm. Sci. 11, (2000) S1-S2.

Internetes hivatkozás: teljes URL-cím a keresőablakból ki-másolva és az elérés dátuma az alábbiak szerint:

6. <http://www.eum.hu/main.php?folderID=3746&objectID=6000268> [2008. 08. 05.] Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja - Gyógyszeres fájdalomcsillapítás és gyulladásgátlás a reumatológiai betegségekben.

Az idegen orvosi kifejezések helyesírásában Fábíán P. és Magasi P.: Orvosi helyesírási szótár. Akadémiai Kiadó, 1992. legyen az irányadó, a kémiai kifejezések nevezéktanára és helyesírására vonatkozóan pedig Erdey-Grúz T. és Csányi P.: A kémiai elnevezés és helyesírás szabályai. Akadémiai Kiadó, 1972.; F. Csányi P., Fábíán P. és Hőnyi E.: Kémiai helyesírási szótár. Műszaki Kiadó, 1982.; valamint F. Csányi P. és Simándi L.: Szervetlen kémiai nevezéktan. Magyar Kémikusok Egyesülete, 1995.

A mértékegységek megjelölésében az SI-mértérendszer szabályai az irányadók.

#### b) A kézirat felépítése

A kézirat szerkesztéséhez a következő beosztást kérjük:

A **dolgozat címe** (esetleg alcíme).

A **szerző(k) teljes neve** (tudományos fokozatok nélkül), a szerkesztőséggel kapcsolatot tartó szerző neve csillaggal megjelölve.

A szerző(k) **munkahelye** teljes postai címmel, valamint a **levelező szerző e-mail címe**.

A **dolgozat magyar nyelvű összefoglalása**.

A magyar nyelvű összefoglalás terjedelme a dolgozat hosszától függően 10-20 sor legyen és az általános megfogalmazások kerülésével tartalmazza a dolgozat legfontosabb, konkrét megállapításait.

**Kulcs-szavak:** A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcs-szó megadása.

A dolgozat **címe angol nyelven**, a szerző(k) neve (keresztnév rövidítve).

**Angol nyelvű összefoglalás.**

**Bevezetés**, amely tartalmazza a munka célkitűzéseit, valamint a vizsgálatok előzményeiből és irodalmi háttéréből annyit, amennyi a dolgozat megértéséhez és értékeléséhez szükséges.

**Key-words:** A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcs-szó angol nyelvű fordítása.

**Kísérleti rész**, amely tartalmazza a felhasznált eszközök és anyagok, valamint a kidolgozott módszerek pontos leírását.

**Eredmények.**

A dolgozatok csak a leírt módszerek teljesítőképességét megfelelően dokumentáló adatokkal fogadhatók el. Ezek megadásánál használjuk a matematikai statisztika korszerű módszereit.

**Az eredmények értékelése.**

**Ábracímek.**

**Következtetések.** Az utóbbi két fejezet összevonható az Eredmények c. fejezettel.

Az esetleges **köszönetnyilvánítások.**

**Irodalomjegyzék.**



